



**Universidad Politécnica de Madrid**

Facultad de Informática

**Tesis Fin de Máster**

---

***Modelo de Simulación para la  
Liberación de Neurotransmisores  
en la Sinapsis***

*Autor:* Elena Gómez Barroso  
*Tutores:* Jose María Peña Sánchez  
Ángel Merchán Pérez

Madrid, Septiembre 2011

*Modelo de Simulación para la Liberación de Neurotransmisores en la Sinapsis*

Elena Gómez Barroso

Madrid, Septiembre 2011

Tutores:

*Jose María Peña Sánchez* (jmpena@fi.upm.es)

*Ángel Merchán Pérez* (amerchan@fi.upm.es)

La composición de este documento se ha realizado con L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X.  
Diseño de Oscar Cubo Medina.

---

# Índice

<b>Índice</b>	<b>I</b>
<b>Índice de figuras</b>	<b>V</b>
<b>Índice de tablas</b>	<b>VII</b>
<b>Acrónimos y abreviaturas</b>	<b>IX</b>

## **PARTE I MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS**

<b>1 Motivación y Objetivos</b>	<b>3</b>
1.1 Contexto	3
1.2 Motivación	4
1.3 Objetivos	5

## **PARTE II ESTADO DEL ARTE**

<b>2 Estructura del Sistema Nervioso</b>	<b>9</b>
2.1 Estructura básica del Sistema Nervioso	9
2.2 El sistema nervioso central	9
2.2.1 El cerebro y la corteza cerebral	10
2.2.2 La corteza cerebral	11

2.3	Estructura de la neurona . . . . .	12
2.4	La transmisión sináptica . . . . .	14
2.4.1	Concepto . . . . .	14
2.4.2	Tipos de sinapsis . . . . .	15
2.4.3	Los neurotransmisores . . . . .	16
2.4.3.1	Procesos bioquímicos . . . . .	17
2.4.3.2	El Glutamato . . . . .	18
2.4.4	Los receptores . . . . .	18
2.4.4.1	El receptor AMPA . . . . .	18
<b>3</b>	<b>Simulación en ciencia . . . . .</b>	<b>19</b>
3.1	Concepto . . . . .	19
3.2	Historia . . . . .	20
3.3	Algoritmos Probabilistas . . . . .	21
3.3.1	Algoritmos de Monte Carlo . . . . .	22
3.4	Simulación en modelos de microfisiología . . . . .	22
3.5	Software para simulación . . . . .	23
3.5.1	Herramienta de diseño 3D Blender . . . . .	23
3.5.2	Simulador MCell . . . . .	24
3.5.2.1	Introducción . . . . .	24
3.5.2.2	MCell como simulador de microfisiología celular . . . . .	25
3.5.2.3	El proceso de simulación . . . . .	26
3.5.2.4	Estructura de los ficheros MDL . . . . .	26
3.5.3	Visualizador DReAMM . . . . .	28

## **PARTE III DISEÑO Y DESARROLLO DE LA SOLUCIÓN**

<b>4</b>	<b>Planteamiento del problema . . . . .</b>	<b>31</b>
4.1	Introducción . . . . .	31

<b>5</b>	<b>Desarrollo de la solución</b>	<b>35</b>
5.1	Especificaciones previas	35
5.1.1	Aproximación a una sinapsis real	38
5.1.1.1	Objetivos y alcance	38
5.1.1.2	Desarrollo del proceso	40
5.1.1.3	Resultados obtenidos	45
 <b>PARTE IV CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS</b>		
<b>6</b>	<b>Conclusiones y Líneas Futuras</b>	<b>57</b>
6.1	Conclusiones	57
6.2	Líneas futuras	58
<b>Bibliografía</b>		<b>59</b>



---

# Índice de figuras

1.1	Un terminal glutamatérgico establece una sinapsis excitatoria con una espina dendrítica[Ángel Merchán-Pérez et al., 2009]	4
2.1	Anatomía del encéfalo	10
2.2	Las áreas de la corteza cerebral en una visión lateral del cerebro según Brodmann, 1914	11
2.3	Las seis capas de la corteza cerebral en diferentes áreas, según Brodmann, 1914	12
2.4	Estructura de una motoneurona de la médula espinal	14
2.5	Estructura de una sinapsis química. Asociación educar	15
3.1	Proceso de desarrollo en la generación de simulaciones	20
3.2	Paisaje campestre diseñado con Blender	24
3.3	Etapas para la creación de una simulación en MCell	25
4.1	Etapas en el proceso de simulación	32
4.2	Liberación de neurotransmisor en una sinapsis. Zptech	33
5.1	Esquema de activación del receptor AMPA. [Jonas et al., 1993]	37
5.2	Jerarquía de los ficheros del modelo	41
5.3	Morfologías de sinapsis desarrolladas	46
5.4	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-1	47
5.5	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-1	47
5.6	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-2	48

5.7	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-2 . . . . .	48
5.8	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-3 .	49
5.9	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-3 . . . . .	49
5.10	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-4 .	50
5.11	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-4 . . . . .	50
5.12	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-5 .	51
5.13	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-5 . . . . .	51
5.14	Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-6 .	52
5.15	Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-6 . . . . .	52
6.1	Reconstrucción de una sinapsis real . . . . .	58



---

# Índice de tablas

2.1	Tipos de sinapsis químicas . . . . .	16
2.2	Principales neurotransmisores y sus receptores asociados . . . . .	17
3.1	Etapas en el proceso de simulación . . . . .	23
3.2	Estructura de los ficheros MDL . . . . .	27
5.1	Parámetros constantes del modelo . . . . .	36
5.2	Constantes de velocidad del modelo de activación del AMPA. Jonas et al . . . . .	38
5.3	Parámetros de los modelos sinápticos . . . . .	39
5.4	Parámetros a estudio del modelo . . . . .	43
5.5	Descripción de las configuraciones a estudio . . . . .	45



---

# Acrónimos y abreviaturas

*UPM* Universidad Politécnica de Madrid

*CSIC* Consejo Superior de Investigaciones Científicas

*MDL* Model Description Language

*DReAMM* Design, Render, and Animate MCell Models

*SBES* Simulation-Based Engineering Science



Parte I

---

## **Motivación y Objetivos**



# Capítulo 1

---

## Motivación y Objetivos

### 1.1. Contexto

El objetivo final del proyecto Blue Brain es el estudio de la estructura del cerebro de mamíferos, a través del desarrollo de una simulación de todo el órgano desde el nivel molecular hasta el nivel macroscópico. Este concepto se denomina ingeniería inversa y permitirá avanzar en la comprensión del comportamiento del cerebro así como en el estudio de la función y disfunción cerebral.

La primera fase del proyecto Blue Brain se inició, recopilando los datos producidos tras 15 años analizando las propiedades microanatómicas, genéticas y electrofisiológicas de la unidad elemental del neocórtex, la columna cortical. Tras recoger datos de 15000 experimentos realizados sobre la corteza somatosensorial de las ratas, fue posible iniciar la construcción de un modelo de este componente del cerebro.

El proyecto se ha centrado, sin embargo, no sólo en la construcción de un modelo de la columna cortical, si no también en el desarrollo de una instalación genérica que pueda permitir la rápida modelización, simulación y experimentación de cualquier región del cerebro, siempre y cuando los datos puedan ser introducidos y presentados de acuerdo a las especificaciones. Esta instalación genérica ha permitido construir el primer modelo de columna cortical, que consta de 10000 digitalizaciones en 3D de neuronas reales. Para construir el modelo se utiliza un supercomputador (Blue Gene) que permite llevar a cabo experimentos que predicen el comportamiento del tejido cerebral a través de las simulaciones.

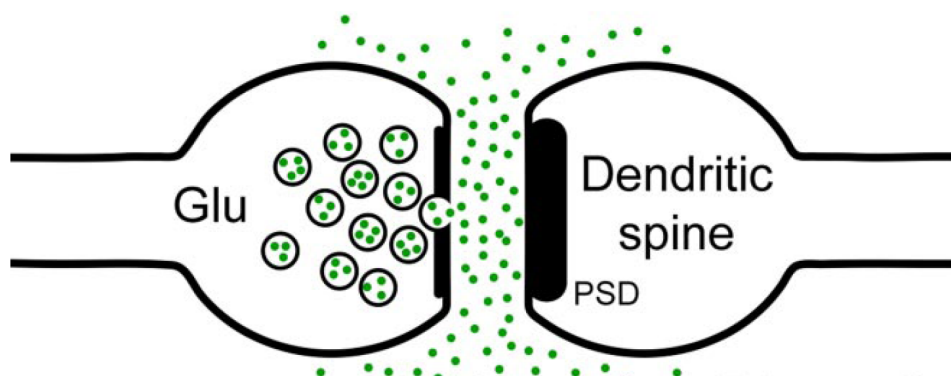
En mayo de 2009, se presenta la iniciativa española denominada Cajal Blue Brain, que aglutina la participación española en el proyecto internacional Blue Brain. Esta iniciativa está formada por doce equipos de varios institutos y centros científicos, encabezados por la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

## 1.2. Motivación

La utilización de simulaciones por ordenador en el campo de la neurociencia, ofrece una mejora radical en el método científico al proporcionar un medio en el que poder probar hipótesis sobre los complejos modelos biológicos. Hay que tener en cuenta que la calidad de las simulaciones es directamente proporcional a la calidad de los datos y a la exactitud en la abstracción matemática de los procesos biológicos.

Las sinapsis son los contactos que permiten el intercambio de información entre neuronas. A través de ellas, las neuronas son capaces de formar circuitos que intervienen en las operaciones funcionales específicas de las distintas regiones del cerebro. Por tanto, puede considerarse a la sinapsis como la estructura elemental y la unidad funcional en la construcción de circuitos neuronales.

La inmensa mayoría de las sinapsis del cerebro de los vertebrados son sinapsis químicas. En ellas el elemento presináptico es generalmente un terminal axónico, mientras que el elemento postsináptico puede ser un cuerpo neuronal, el segmento inicial del axón, un tronco dendrítico o una espina dendrítica. Las membranas de los elementos pre y postsináptico no entran en contacto, sino que están separadas por un pequeño espacio denominado hendidura sináptica. En una sinapsis química, el elemento presináptico libera una sustancia química, el neurotransmisor, que difunde por la hendidura sináptica y actúa sobre el elemento postsináptico. Desde un punto de vista operacional, una sinapsis convierte un impulso eléctrico que alcanza el elemento presináptico en una señal química, que a su vez provoca un fenómeno eléctrico en el lado postsináptico. Para que esto ocurra, el neurotransmisor liberado debe difundir por la hendidura sináptica e interactuar con receptores específicos presentes en la membrana postsináptica. Dependiendo del tipo de neurotransmisor utilizado y de los receptores implicados la sinapsis podrá ser excitatoria, si se estimula el elemento postsináptico, o inhibitoria si ocurre lo contrario.



**Figura 1.1:** Un terminal glutamatérgico establece una sinapsis excitatoria con una espina dendrítica[Ángel Merchán-Pérez et al., 2009]



La transmisión sináptica ocurre a escala submicroscópica, lo que la hace inaccesible a la observación experimental directa. Sin embargo, tanto la difusión del neurotransmisor como su interacción con los receptores sinápticos pueden simularse dado que dependen de parámetros físico-químicos conocidos. En este trabajo hemos elegido como objeto de estudio una sinapsis glutamatérgica (que usa glutamato como neurotransmisor excitatorio) debido a que es la sinapsis más común en la corteza cerebral. Si bien se conocen las propiedades de los diferentes tipos de receptores de glutamato, se desconoce la influencia que pueda tener en el comportamiento de la sinapsis la geometría de ésta, es decir, su forma y tamaño. Sabemos por estudios de microscopía electrónica que tanto la forma como el tamaño de las sinapsis son muy variables, y es precisamente esta variabilidad la que pretendemos simular, junto con otros parámetros como el número de receptores de neurotransmisor.

### **1.3. Objetivos**

Una de las razones que motivan el desarrollo de modelos para la simulación en neurociencia, es la posibilidad de probar hipótesis sobre dichos modelos que no sería posible llevar a cabo sobre tejido vivo.

El presente proyecto se centra en el proceso de construcción de un modelo que, a partir de datos estructurales reales procedentes de sinapsis de la corteza cerebral, sea capaz de proporcionar una simulación en la que se refleje la liberación de un neurotransmisor, en este caso el glutamato, y su difusión dentro y fuera de la hendidura sináptica.

Sobre este modelo se estudiará el efecto del tamaño y la geometría de las sinapsis analizando la capacidad de apertura de los receptores, y estudiando los resultados obtenidos tras la ejecución de la simulación con el fin de extraer conclusiones acerca del funcionamiento de la transmisión de la señal sináptica en la corteza cerebral.

Los objetivos fijados a la hora de realizar este proyecto son los que se enumeran a continuación:

- Diseño de un conjunto de modelos geoméricamente complejos de una sinapsis glutamatérgica que incluya figuras renderizadas mediante la utilización de herramientas 3D.
- Simulación de los modelos mediante el uso de herramientas de modelado para simulación realista en entornos subcelulares.
- Análisis de los resultados extraídos del simulador.



## Parte II

---

### **Estado del arte**



## Capítulo 2

---

# Estructura del Sistema Nervioso

### 2.1. Estructura básica del Sistema Nervioso

Desde un punto de vista anatómico el sistema nervioso se divide en sistema nervioso central (SNC) y sistema nervioso periférico (SNP). El SNC comprende las partes del sistema nervioso que se encuentran en el eje del organismo, es decir, aquellas que están contenidas en el cráneo y en el conducto raquídeo de la columna vertebral. El SNP, por su parte, está formado por los nervios que se distribuyen por las diferentes partes del cuerpo, así como por los ganglios periféricos.

### 2.2. El sistema nervioso central

La mayor parte de las funciones vitales del organismo se llevan a cabo bajo la supervisión y coordinación del SNC. Las partes que componen el SNC en animales vertebrados son:

- **Encéfalo:** Está rodeado por un conjunto de huesos que forman la caja craneal y lo componen tres partes distintas pero conectadas: cerebro, cerebelo y tronco del encéfalo. El cerebro se subdivide a su vez en diencéfalo (su parte central) y telencéfalo (los hemisferios cerebrales), mientras que el tronco del encéfalo está formado por el mesencéfalo, la protuberancia y el bulbo raquídeo.
- **Médula espinal:** Está alojada en el canal vertebral.

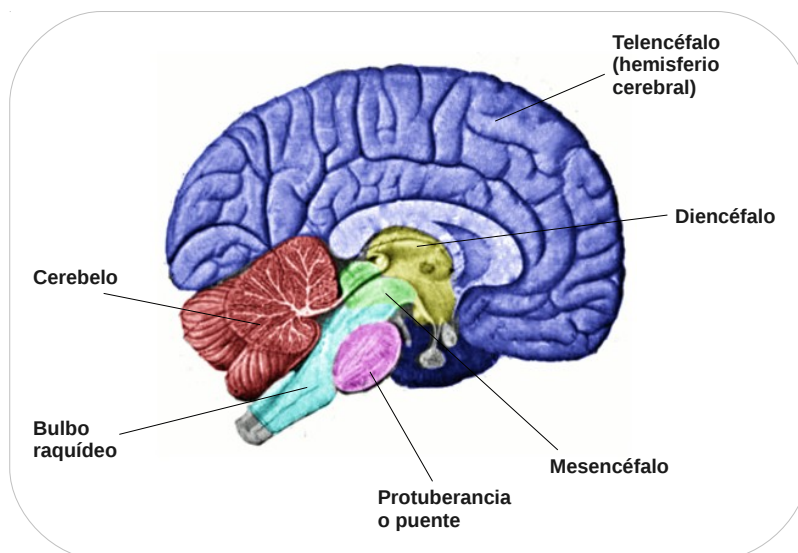
Tanto el encéfalo como la médula espinal están protegidas por tres membranas de tejido conjuntivo llamadas meninges y cuyos nombres son, empezando por la más externa: duramadre, aracnoides y piamadre. Entre estas dos últimas membranas se encuentra el líquido cefalorraquídeo, encargado de

amortiguar las compresiones producidas por los impactos externos. El líquido cefalorraquídeo rellena también los ventrículos, que son unas cavidades que se encuentran en el interior del encéfalo.

### 2.2.1. El cerebro y la corteza cerebral

El cerebro constituye la masa principal del encéfalo y en el ser humano alcanza un desarrollo extraordinario. En los vertebrados el cerebro se encuentra en la cabeza protegido por el cráneo y cerca de los órganos sensoriales primarios de la visión, audición, el equilibrio, el gusto y el olfato.

El cerebro se encarga de controlar las funciones del organismo provocando la secreción de sustancias químicas como las hormonas. Este control centralizado de las funciones del cuerpo permite una rápida y coordinada respuesta ante los cambios que se suceden en el medio ambiente que rodea al ser vivo.

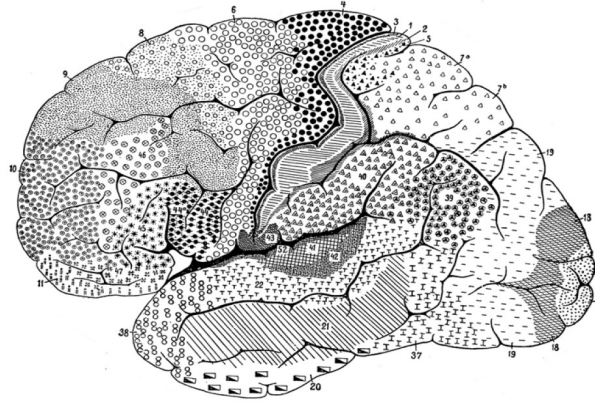


**Figura 2.1:** Anatomía del encéfalo

La parte del cerebro que nos interesa en este trabajo es la corteza cerebral, que como su nombre indica, se sitúa en la superficie del cerebro. Es en esta región del cerebro donde residen las funciones cognitivas superiores que nos distinguen de otros animales. La corteza cerebral (también llamada sustancia gris cortical o simplemente córtex) del humano posee entre 15000 y 33000 millones de neuronas conectadas entre si por alrededor de 10000 conexiones sinápticas cada una. De esta forma, cada milímetro cúbico de corteza cerebral posee aproximadamente mil millones de sinapsis y estas conexiones entre neuronas se realizan a través de largas prolongaciones celulares llamadas axones. Estos axones se encargan de transportar los impulsos eléctricos en forma de potenciales de acción.

### 2.2.2. La corteza cerebral

La corteza cerebral del ser humano tiene un espesor de entre 1 y 4.5 mm, siendo el espesor medio de unos 2.5 mm [Fischl and Dale, 2006]. Esta fina capa contiene entre 15000 y 33000 millones de neuronas y cada milímetro cúbico de corteza cerebral contiene alrededor de 1000 millones de sinapsis.



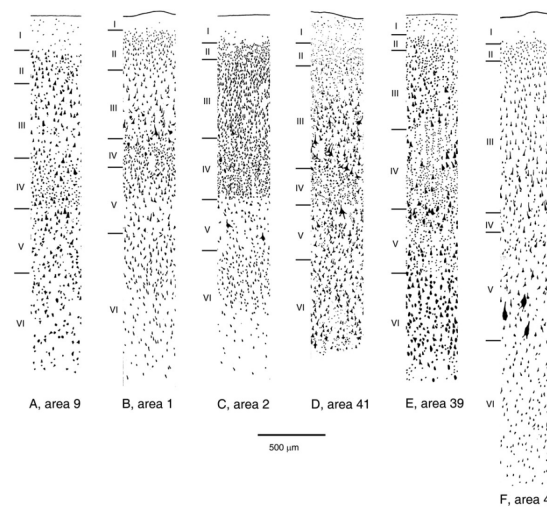
**Figura 2.2:** Las áreas de la corteza cerebral en una visión lateral del cerebro según Brodmann, 1914

Diferentes áreas de la corteza cerebral se encargan de distintas funciones. Por ejemplo, la corteza somatosensorial objeto del presente trabajo recibe la información sensitiva que recibimos del exterior a través de la piel, así como la sensibilidad de nuestros propios huesos, articulaciones y músculos. Otros ejemplos serían las áreas visuales, auditivas, el área motora primaria, etc. Existen, sin embargo, grandes extensiones de la corteza de las que se desconocen sus funciones específicas.

La corteza está organizada en seis capas, que se numeran del I al VI:

- La capa molecular o plexiforme (I) es la más superficial y consiste en una red densa de fibras nerviosas orientadas tangencialmente. Estas fibras derivan fundamentalmente de las dendritas apicales de células piramidales de capas inferiores y de axones ascendentes de otras capas. En esta capa las neuronas son muy escasas. Por ser la capa más superficial se establecen gran cantidad de sinapsis entre diferentes neuronas.
- La capa granular externa (II) contiene un gran número de pequeñas células piramidales y estrelladas. Las dendritas de éstas células terminan en la capa molecular y los axones entran en las capas más profundas.

- La capa piramidal externa (III) está formada por neuronas piramidales de pequeño y mediano tamaño. Las dendritas apicales de estas células llegan hasta la capa molecular y los axones hasta la sustancia blanca como fibras de proyección, asociación o comisurales.
- La capa granular interna (IV) está compuesta mayoritariamente por células estrelladas dispuestas en forma muy compacta. Aquí se reciben la mayor parte de las conexiones que proceden del tálamo, una región del cerebro perteneciente al diencefalo.



**Figura 2.3:** Las seis capas de la corteza cerebral en diferentes áreas, según Brodmann, 1914

- La capa piramidal interna (V) está formada por células piramidales medianas y grandes. En la capa V de la corteza motora primaria se encuentran las células piramidales gigantes o de Best.
- La capa de células polimórficas (VI) consta de varios tipos de células, con predominio de las fusiformes. Las células son menos abundantes cuanto más se profundiza en esta capa, hasta continuarse con la sustancia blanca.

### 2.3. Estructura de la neurona

La neurona es considerada la unidad estructural y funcional fundamental del sistema nervioso. Esto quiere decir que las diferentes estructuras del sistema nervioso tienen como base grupos de neuronas. Además, la neurona es la unidad funcional porque puede aislarse como componente individual y puede llevar a cabo la función básica del sistema nervioso, la cual es transmitir la información en forma de impulsos nerviosos.



La neurona es un tipo de célula con unos componentes estructurales básicos que le permiten llevar a cabo la función distintiva de transmitir cierto tipo de mensajes, a los que se les conoce como impulsos nerviosos. Una neurona típica consta de una parte central denominada cuerpo o soma del que parten dos tipos de prolongaciones: las dendritas y el axón.

El **soma** de la neurona contiene el núcleo celular ocupando una posición central. Suele ser muy visible debido a su tamaño. Contiene el material genético de la célula necesario para la síntesis de proteínas y para el mantenimiento y la supervivencia de la neurona. La forma y tamaño del soma son muy variables y pueden servir para distinguir distintos tipos neuronales. Por ejemplo, las células piramidales de la corteza cerebral deben su nombre a la forma piramidal o cónica del cuerpo celular. Otras neuronas reciben el nombre de células fusiformes o estrelladas por razones parecidas. Neuronas típicamente muy grandes son las células de Purkinje del cerebelo, las motoneuronas de la médula espinal o las pirámides gigantes de Betz en la corteza cerebral. En el extremo contrario, neuronas cuyo soma es muy pequeño reciben el nombre de granos en el hipocampo o en el cerebelo.

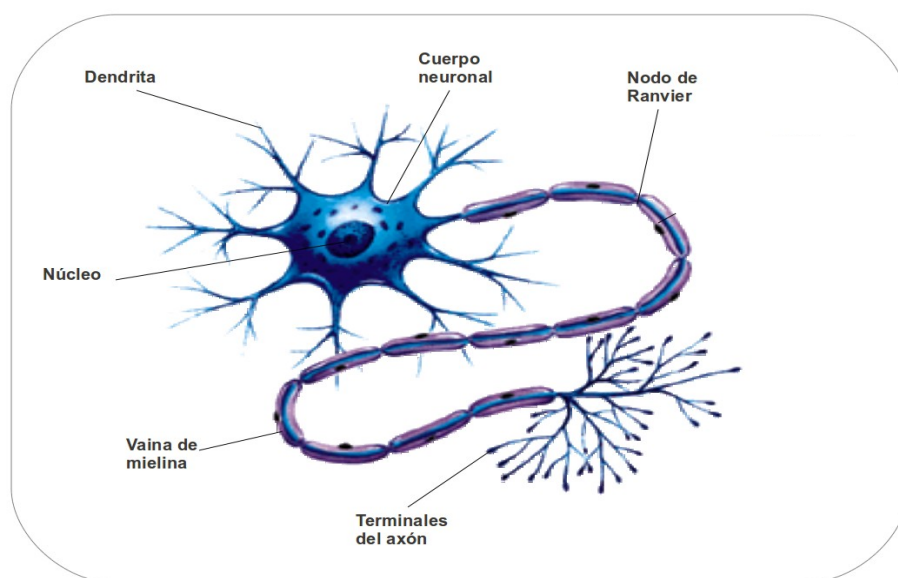
Las **dendritas** son prolongaciones protoplásmicas ramificadas de la neurona. Generalmente las dendritas son múltiples y se ramifican profusamente aunque su número, tamaño y patrón de ramificación varía según el lugar y la función de la neurona. Las dendritas de determinados tipos neuronales, como las pirámides o las células estrelladas de la corteza cerebral, presentan multitud de pequeñas protuberancias denominadas espinas dendríticas.

El **axón**, al contrario que las dendritas, es generalmente único. Se origina en el soma o en la raíz de alguna de las dendritas principales y puede recorrer grandes distancias (hasta decenas de centímetros en el hombre) antes de ramificarse en su porción terminal. Durante su camino es habitual que se produzcan ramificaciones, denominadas colaterales axónicas cuya porción terminal se ramifica a su vez. Las partes en que se puede dividir el axón son: cono axónico, segmento inicial y resto del axón. El cono axónico es la parte del axón que emerge del soma, es una estructura anatómica con la mayor densidad de canales de sodio de toda la neurona, lo que hace que sea la zona con mayor capacidad de excitación de toda la célula. El segmento inicial es la estructura clave para generar los potenciales de acción neuronal que difunden a través del axón y sus colaterales para alcanzar a otras neuronas.

Las neuronas se comunican entre si a través de estructuras especializadas denominadas sinapsis. Las neuronas reciben sinapsis tanto en el árbol dendrítico como en el soma. Si poseen espinas, la inmensa mayoría de las sinapsis se producen sobre estas estructuras. Los impulsos eléctricos viajan por el árbol dendrítico hasta el soma y desde allí alcanzan el axón, el cual establecerá a su vez múltiples sinapsis con otras neuronas a través de los terminales axónicos.

La **mielina** es una capa aislante que se forma alrededor de los axones. Está compuesta de proteínas y sustancias grasas. La función principal de la vaina de mielina es permitir la rápida y eficiente transmisión

del impulso nervioso a lo largo de los axones. Por tanto, si la mielina se viera dañada provocaría un retraso en la transmisión del impulso dando lugar a enfermedades como la esclerosis múltiple.



**Figura 2.4:** Estructura de una motoneurona de la médula espinal

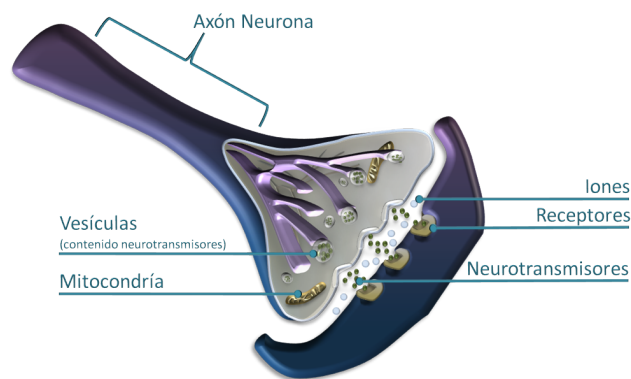
Los **nodos de Ranvier** son los espacios formados entre las vainas de mielina consecutivas, de aproximadamente 1 micra de longitud. En estas zonas, la membrana del axón carece de aislamiento lo que permite la generación de actividad eléctrica. La conducción del impulso nervioso a través de axones con vainas de mielina y por tanto nodos de Ranvier, posee dos ventajas frente a axones que carezcan de mielina. Por un lado, se ahorra energía y por otro se aumenta la velocidad de conducción facilitando la interacción entre neuronas.

Las **células de Schwann** son las células gliales que se encargan de producir la mielina mientras que en el SNC se encargan de ello los oligodendrocitos.

## 2.4. La transmisión sináptica

### 2.4.1. Concepto

En el sistema nervioso, una sinapsis es una unión que permite a una neurona transmitir una señal eléctrica o química a otra célula. Las sinapsis son esenciales para la función neuronal, ya que las neuronas son células especializadas en transmitir señales a células diana.



**Figura 2.5:** Estructura de una sinapsis química. Asociación educar

En una sinapsis, la membrana plasmática de la neurona presináptica se aproxima estrechamente a la membrana de la neurona postsináptica, dejando un pequeño espacio entre ellas denominado hendidura sináptica. En la mayor parte de las sinapsis, el elemento presináptico es un terminal axónico.

#### 2.4.2. Tipos de sinapsis

Las sinapsis se clasifican en dos tipos según el mecanismo utilizado para la transmisión del impulso:

- **Sinapsis eléctrica:** Una sinapsis eléctrica es aquella en la que la transmisión entre la primera neurona y la segunda se produce por el paso de iones de una célula a otra. Esto implica la existencia de uniones intercelulares que son pequeños canales formados por el acoplamiento de complejos proteicos, basados en conexinas, en células estrechamente adheridas. Estos canales son permeables a los iones en ambas direcciones, por lo que estas sinapsis transmiten impulsos en ambos sentidos. Las sinapsis eléctricas son comunes en invertebrados pero son muy raras, salvo algunas excepciones, en el sistema nervioso de los mamíferos.
- **Sinapsis química:** El elemento presináptico libera una sustancia química llamada neurotransmisor que se une con receptores localizados en el elemento postsináptico. La unión de una molécula neurotransmisora con un receptor puede afectar a la neurona postsináptica en una gran variedad de posibilidades. Las neuronas que intervienen en este tipo de sinapsis están separadas por una hendidura sináptica de entre 12 y 20 nm [Savtchenko and Rusakov, 2007].

En los vertebrados la mayoría de las sinapsis son de tipo químico, en las cuales una sustancia, el neurotransmisor hace de puente entre las dos neuronas, difunde a través de la hendidura sináptica e interactúa con los receptores, moléculas situadas en la membrana postsináptica.

La unión de neurotransmisores a receptores de la membrana postsináptica produce cambios en la permeabilidad de la membrana lo que da lugar a un impulso eléctrico. La naturaleza del neurotransmisor y la molécula del receptor determina si el efecto producido será de excitación o inhibición de la neurona postsináptica (Barr, 1994). Se han descrito varias formas de sinapsis químicas según las estructuras implicadas. (Bradford, 1988).

En función de la respuesta que produzca el neurotransmisor sobre el elemento postsináptico, la transmisión de esta señal se puede clasificar en dos tipos distintos:

- **Transmisión excitadora:** En este tipo de conexión el impulso transmitido por una neurona excita la activación de la neurona con la que está conectada.
- **Transmisión inhibitoria:** En este tipo de conexión el impulso transmitido por una neurona inhibe la activación de la neurona con la que está conectada.

Clases más comunes de sinapsis químicas	Descripción
Axosomática	Sinapsis entre un axón y un soma
Axodendrítica	Sinapsis ocurrida entre un axón y una dendrita
Axoespinodendrítica	Sinapsis entre un axón y una espina dendrítica
Axoaxónica	Sinapsis entre dos axones

**Tabla 2.1:** Tipos de sinapsis químicas

### 2.4.3. Los neurotransmisores

Cuando el impulso nervioso comienza a desencadenarse, se produce un brusco cambio en un punto de la membrana de la neurona, conocido como potencial de acción. Esta modificación recorre la membrana del axón a gran velocidad de forma que la neurona es capaz de disparar impulsos nerviosos decenas de veces por segundo. Al llegar al final del axón, estos cambios de potencial eléctrico provocan la liberación de moléculas de neurotransmisor, hasta entonces almacenadas en pequeñas vesículas sinápticas. Los neurotransmisores son liberados al final de las terminaciones axónicas, difunden a través de el espacio intrasináptico y se unen con moléculas receptoras situadas en la superficie de la neurona postsináptica, provocando a su vez un impulso eléctrico.

Neurotransmisor	Receptores asociados
Glutamato	AMPA, NMDA y ACPD
Aspartato	NMDA
Ácido g-aminobutírico o GABA	GABAA y GABAB
Serotonina	Receptores de 5-HT
Acetilcolina	Receptor nicotínico (nAChR) y receptor muscarínico (mAChR)
Dopamina	D1, D2, D3, D4 y D5
Noradrenalina	$\alpha$ 1, $\alpha$ 2, $\beta$ 1 y $\beta$ 2

**Tabla 2.2:** Principales neurotransmisores y sus receptores asociados

Los neurotransmisores son, por tanto, mensajeros químicos que pueden ser considerados como las principales sustancias de la sinapsis y su estudio es uno de los principales objetivos de la neurociencia a día de hoy.

#### 2.4.3.1. Procesos bioquímicos

Una vez descrito a grandes rasgos el funcionamiento de la sinapsis y el papel que juegan los neurotransmisores en ella, se pasa a detallar a continuación los procesos bioquímicos asociados a estas moléculas.

- **Síntesis:** La regulación de la síntesis es una actividad dependiente del núcleo y por tanto de la propia constitución y diferenciación neuronal. Pero en ella intervienen muchos factores: el primero es la presencia de precursores; el segundo, la activación de los sistemas enzimáticos que deben intervenir; y el tercero, la propia concentración de neurotransmisores.
- **Almacenamiento:** El almacenamiento del neurotransmisor se lleva a cabo por vesículas sinápticas, que son pequeñas esferas ubicadas en los terminales axónicos.
- **Liberación:** Se lleva a cabo por exocitosis. Cuando llega un impulso nervioso a la neurona presináptica, ésta abre los canales de calcio, entrando el ion en la neurona y liberándose el neurotransmisor en el espacio sináptico. El calcio además de iniciar la exocitosis, activa el traslado de las vesículas a los lugares de su liberación con la ayuda de proteínas de la membrana plasmática y de la membrana vesicular.
- **Recepción:** Esta fase del proceso bioquímico se refiere a la activación de los receptores situados en la membrana plasmática de la neurona postsináptica.

- **Iniciación:** En esta etapa comienzan las acciones de la neurona diana del neurotransmisor.
- **Inactivación:** La inactivación de la molécula se produce por degradación química o por recaptación por las membranas de las células que se encuentran en la vecindad de las sinapsis. En el caso de que la inactivación se produzca por inactivación química, existen enzimas específicas que inactivan al neurotransmisor en la hendidura sináptica. Por su parte, para que se produzca la recaptación del neurotransmisor se requiere la existencia de moléculas transportadoras específicas que lo introducen en las células vecinas eliminándolo así del medio extracelular.

### 2.4.3.2. El Glutamato

Existen una gran variedad de moléculas que actúan como neurotransmisores. Sin embargo, el ácido glutámico o en su forma ionizada, glutamato, es el neurotransmisor excitador por excelencia de la corteza cerebral en mamíferos. Su papel como neurotransmisor está mediado por la estimulación de receptores específicos, denominados receptores de glutamato, que se clasifican en: ionotrópicos y receptores metabotrópicos de ácido glutámico.

### 2.4.4. Los receptores

En citología, el término receptores designa a las proteínas que permiten la interacción de determinadas sustancias con los mecanismos del metabolismo celular. Los receptores son proteínas o glicoproteínas presentes en la membrana plasmática, en las membranas de los orgánulos o en el citosol celular, a las que se unen específicamente otras sustancias químicas llamadas moléculas señalizadoras, como las hormonas y los neurotransmisores. En el caso que nos ocupa, existen una gran variedad de receptores para cada neurotransmisor, mediando cada uno de ellos efectos distintos.

#### 2.4.4.1. El receptor AMPA

De entre los varios tipos de receptores sensibles al glutamato hemos elegido para este modelo de sinapsis, el receptor AMPA. El receptor AMPA (propionato de alfa amino 3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol) es un tipo de receptor transmembrana del glutamato responsable de la mayor parte de la transmisión de la señal sináptica excitadora en todo el SNC.

## Capítulo 3

---

# Simulación en ciencia

### 3.1. Concepto

La definición del término **simulación** corresponde a la experimentación con un modelo de una hipótesis o un conjunto de hipótesis de un trabajo. El verbo *simular* es introducido por Neumann y Ulam al final de los años 40 en la literatura científica moderna. Lo que trataban de explicar con este término era la aplicación de técnicas matemáticas para la resolución de problemas de defensa nuclear en los que el tratamiento experimental hubiera sido demasiado costoso y en los que el análisis resultaba excesivamente complicado.

Otra posible definición fue propuesta por el epistemólogo alemán Stephan Hartmann de la siguiente forma: “Una simulación es la imitación de un proceso mediante el uso de otro proceso”. Esta definición permite incluir en el análisis muchas de las herramientas usadas por los científicos aun sin el uso de ordenadores.

Por último, existe una definición más restringida: “Una simulación es la resolución numérica de ecuaciones matemáticas que modelan fenómenos de un sistema real”.

Las técnicas de simulación son la única forma de abordar la mayor parte de los problemas científicos y tecnológicos en la actualidad según se plantea en el informe Simulation-Based Engineering Science (SBES). La simulación es una parte crucial de la investigación científica. Con las técnicas de simulación se han reducido enormemente los tiempos de testeo de los experimentos llevados a cabo.

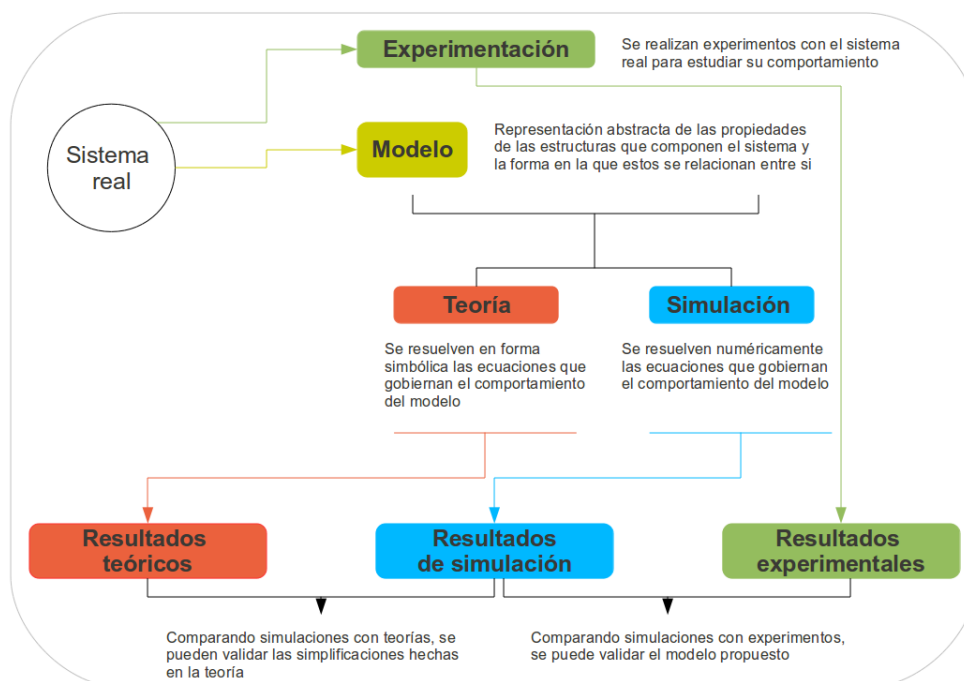
La información acerca de la situación meteorológica futura de las distintas zonas del mundo se obtiene como resultado de la evolución que un sistema sufre al emular las distintas condiciones de la atmósfera. Es decir, para predecir el tiempo se utilizan ordenadores que simulan las condiciones meteo-

rológicas actuales, a las que se le añaden una serie de variables para tratar de predecir el futuro estado meteorológico.

La documentación médica incluye cientos de imágenes sobre la anatomía humana y en multitud de ocasiones se han realizado reconstrucciones del cuerpo humano con objeto de simular su estructura y funciones. Uno de los mayores proyectos llevados a cabo a este respecto es The Visible Human Project, el cual se basa en obtener imágenes digitalizadas de secciones congeladas de un cadáver, además de tomografías computerizadas y resonancias magnéticas. Por lo que, con toda esta información es posible llevar a cabo simulaciones muy precisas del cuerpo humano.

## 3.2. Historia

Antes de la aparición de los ordenadores, la forma de predecir el resultado de un experimento era haciendo uso de una teoría que proporcionaba una descripción aproximada del sistema que estaba siendo tratado. Sin embargo, los resultados que estas teorías proporcionaban eran inexactos mientras que las simulaciones por ordenador presentan resultados exactos para un modelo dado.



**Figura 3.1:** Proceso de desarrollo en la generación de simulaciones

Fue en 1953 cuando los computadores fueron puestos a disposición para la investigación no clasificada, la simulación numérica de líquidos densos fue uno de los primeros problemas que se abordó. De hecho, la primera simulación que se llevó a cabo en el campo de los “líquidos” fue realizada por



[N.Metropolis and E.Teller, 1953] en Los Álamos introduciendo los métodos de Monte Carlo. Sin embargo, la primera propuesta de simulación en dinámica molecular fue realizada en 1956 por Alder y Wainwright [B.J.Alder and T.A.Wainwright, 1958] en Livermore quienes se dedicaron al estudio de dinámicas de conjunto de esferas.

La primera simulación de dinámica molecular de un modelo hecho sobre material real se llevó a cabo en 1959 y fue publicado posteriormente en 1960. En este proyecto se simularon los daños que provocaba la radiación sobre la cristalización del cobre. Si nos referimos a la primera simulación de dinámica molecular en líquidos hay que remontarse a 1964, fue realizada por Rahman con argón [A.Rahman, 1964].

Poco a poco, científicos de fuera de los laboratorios del gobierno de los Estados Unidos fueron teniendo acceso a los ordenadores y el uso de la simulación como herramienta científica comenzó a extenderse a otros continentes. Desde entonces se ha desarrollado la mayor parte de la metodología en simulaciones de dinámica molecular, aunque los algoritmos básicos de Monte Carlo o de dinámica molecular apenas han cambiado desde los años 50.

### **3.3. Algoritmos Probabilistas**

Un algoritmo probabilista basa su resultado en la toma de algunas decisiones al azar, de forma, que en promedio, obtiene una buena solución al problema planteado para cualquier distribución de los datos de entrada. Por ello a este tipo de algoritmos también se les denomina algoritmos aleatorios. De esta forma, un mismo algoritmo puede comportarse de forma diferente al aplicarse varias veces a un mismo conjunto de datos, obteniendo un tiempo de ejecución y un resultado que pueden ser distintos.

A diferencia de los algoritmos deterministas los cuales no permiten que se pierda el control, es decir, no permiten la entrada en bucles infinitos ni las divisiones por cero, los algoritmos probabilistas sí lo permiten, ya que ante una situación de bloqueo pueden iniciarse de nuevo.

Otra característica importante de estos algoritmos es que permiten los resultados erróneos con una probabilidad suficientemente pequeña, ya que al ejecutarlo varias veces sobre la misma entrada se espera que el resultado sea correcto con una confianza aceptable. Sin embargo, a un algoritmo determinista no se le permite que calcule una solución incorrecta para ningún dato.

Existen algunas aplicaciones para las cuales la utilización de este tipo de algoritmos está justificada, como es el caso de simular el comportamiento de algún sistema existente en el que el resultado por naturaleza es estocástico. Como ya se ha comentado previamente, los resultados obtenidos son siempre aproximados pero la precisión en el cálculo mejora a medida que el tiempo disponible para utilizar el algoritmo aumenta.

Existen varios tipos de algoritmos probabilistas dependiendo de su funcionamiento, pudiéndose distinguir:

- **Algoritmos numéricos:** Proporcionan una solución aproximada del problema.
- **Algoritmos de Monte Carlo:** Pueden dar la respuesta correcta o respuestas erróneas con baja probabilidad.
- **Algoritmos de Las Vegas:** Nunca dan una respuesta incorrecta.

#### 3.3.1. Algoritmos de Monte Carlo

El método de Monte Carlo es un método estadístico usado para aproximar expresiones matemáticas complejas y costosas de evaluar con exactitud. El origen del nombre se refiere al Casino de Monte Carlo en el Principado de Mónaco, ya que es considerada la capital del juego de azar y por ser la ruleta un generador simple de números aleatorios. Tanto el nombre como el desarrollo sistemático de este método datan de 1944 y se vio mejorado enormemente con el desarrollo del computador.

Una de las características más interesantes de algunos sistemas biológicos es la presencia de un elemento de incertidumbre, el cual determina o explica el estado del sistema o el resultado obtenido en el experimento. El método de Monte Carlo proporciona soluciones aproximadas a un gran número de problemas para realizar experimentos de muestreo estadístico en un ordenador.

Cabe destacar, que el método se aplica también a problemas sin ningún tipo de contenido probabilístico, así como a aquellos con estructura probabilística inherente. Esto por sí solo, no da al método de Monte Carlo una ventaja sobre otros métodos de aproximación. Teniendo en cuenta que por el teorema del límite central, el error absoluto de este método decrece a medida que el problema aumenta, esta propiedad le proporciona al método una considerable ventaja sobre el resto de métodos numéricos [Fishman, 1995].

#### 3.4. Simulación en modelos de microfisiología

Con el incremento de la potencia de los computadores, las simulaciones por ordenador han podido tratar modelos de más complejos. Las simulaciones son utilizadas con el objetivo de ayudar a la resolución de problemas de forma económica y muy eficiente y también permiten probar y verificar hipótesis científicas con el fin de mejorar los experimentos de investigación.

A la hora de plantear la simulación sobre un sistema real, se deben plantear tres fases en el desarrollo del modelo que va a representar ese sistema.

- **Diseño del modelo**
- **Simulación**
- **Visualización y análisis de resultados**

Estas tres etapas citadas previamente tienen una estrecha relación, ya que mientras un buen diseño del modelo es la clave del éxito, la visualización o el análisis de los resultados también juega un papel importante al convertir los datos de simulación en gráficos tridimensionales que hacen posible comparar el diseño del modelo con el sistema real, y como consecuencia una mejora en la simulación.

<b>Etapas</b>	<b>Pasos básicos</b>
Diseño del modelo	Definir parámetros de simulación Organización de los objetos de simulación Diseño de los algoritmos de simulación
Simulación	Inicialización Iteración Exportar resultados de la simulación
Visualización	Selección del modo de visualización Análisis gráfico y numérico de los resultados

**Tabla 3.1:** Etapas en el proceso de simulación

El diseño del modelo es el primer paso en cualquier tipo de simulación. Un modelo es la definición y representación de un sistema. Un buen diseño de un modelo debería incluir toda la información necesaria para el simulador, tales como objetos de simulación tanto físicos como lógicos, parámetros de simulación, mecanismos de simulación o algoritmos optimizados.

## **3.5. Software para simulación**

En este apartado, se presenta una descripción de todas las herramientas utilizadas tanto en el desarrollo del modelo a simular como en la posterior visualización de dicho modelo para poder analizar gráficamente los resultados del simulador.

### **3.5.1. Herramienta de diseño 3D Blender**

Blender es una herramienta de software libre multiplataforma dedicada al modelado, animación y creación de gráficos tridimensionales.

En este proyecto, Blender se ha utilizado para generar las estructuras que componen la sinapsis. En fases previas a este proyecto, la hendidura sináptica tenía una forma plana. Utilizando Blender, se ha generado una nueva morfología de volumen sináptico con forma de arco para darle al modelo una aproximación mayor al sistema real compuesto por la unión o sinapsis entre dos neuronas.



**Figura 3.2:** Paisaje campestre diseñado con Blender

#### 3.5.2. Simulador MCell

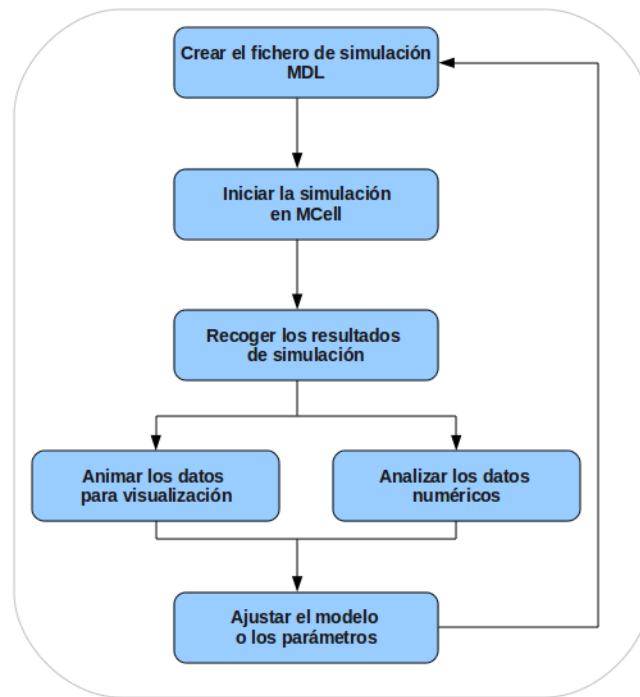
##### 3.5.2.1. Introducción

MCell [Stiles and Bartol, 2005] es una herramienta de modelado para llevar a cabo simulaciones realistas de la transmisión de la señal celular en un entorno subcelular complejo y tridimensional, tanto en el interior de la células como alrededor de ella. En escalas inferiores a la escala subcelular, predomina el comportamiento estocástico en las partículas, por ello, MCell hace uso de algoritmos de Monte Carlo altamente optimizados para lograr representar el comportamiento estocástico de las moléculas en el espacio y en el tiempo, con el fin de comprobar la difusión e interacción con otras moléculas distribuidas heterogéneamente dentro de la geometría tridimensional del entorno subcelular.

MCell no es utilizado sólo para el estudio de la transmisión de la señal sináptica, si no que también sirve como herramienta en el análisis de otras áreas de estudio como son la química estadística o la difusión molecular permitiendo el uso de técnicas de análisis de datos o modelización de procesos de Markov para el tratamiento de los resultados obtenidos.

El nivel de estudio de la neurociencia en el que se sitúan las simulaciones de esta herramienta, es la escala subcelular. En el área de la neurobiología computacional, las comunicaciones subcelulares están basadas en una gran variedad de alternativas para la señal química. Un proceso como la transmisión sináptica abarca neurotransmisores, moléculas neuromoduladoras, proteínas receptoras, proteínas transportadoras y enzimas. Esta herramienta hace posible incorporar estructuras de alta resolución en modelos de difusión de moléculas y provee simulaciones tridimensionales altamente realistas de arquitecturas subcelulares.

A la hora de crear un modelo, el desarrollador debe crear estructuras que representen el sistema real. Estas definiciones deben quedar expresadas mediante la utilización de Model Description Language (MDL) o lenguaje de descripción de modelos. Una vez especificadas todas y cada una de las partículas, estructuras y autómatas que formarán el modelo, es el momento de iniciar el proceso de simulación. Este proceso se lleva a cabo en tres fases: inicialización de la simulación, iteración según el time-step y generación de resultados de salida.



**Figura 3.3:** Etapas para la creación de una simulación en MCell

### 3.5.2.2. MCell como simulador de microfisiología celular

La herramienta MCell fue diseñada inicialmente para el estudio en neurobiología computacional, pero no se limita sólo a este área ya que abarca numerosas aplicaciones como pueden ser el análisis de difusiones y reacciones químicas, el estudio en materia de dinámica molecular e investigaciones en química computacional. Si nos centramos en la parte de neurobiología computacional, esta herramienta permite modelar cuatro eventos característicos:

- Liberación de moléculas desde una estructura
- Difusión molecular dentro de espacios definidos por superficies
- Creación y destrucción de moléculas
- Reacciones químicas entre moléculas

#### 3.5.2.3. El proceso de simulación

Los objetos de simulación se crean una vez que los ficheros escritos en MDL son interpretados. A continuación, comienzan las iteraciones de la simulación, cada una de estas iteraciones corresponde con un time-step del algoritmo de Monte Carlo. Para llevar a cabo este proceso, se asumen como ciertas una serie de cuestiones en cada iteración de la simulación:

- Cada molécula creada en el modelo tiene una posición determinada
- Las moléculas con capacidad de difundir se mueven aleatoriamente y pueden interactuar con otras moléculas, sin capacidad de movimiento, presentes en el modelo
- La posición de cada molécula que no difunde es fija y se considera que puede estar en uno de los estados dados en el esquema de reacción descrito
- El estado de las moléculas sin capacidad de movimiento se asocia con una superficie y una probabilidad de unión al resto de partículas presentes en el modelo

El movimiento de las moléculas se calcula utilizando dinámica browniana debido al comportamiento estocástico de las moléculas al difundir por el medio. El diseño de la simulación está basado en algoritmos de Monte Carlo y de esta forma las interacciones entre moléculas y las reacciones químicas entre ellas son calculadas por el mencionado algoritmo.

#### 3.5.2.4. Estructura de los ficheros MDL

La sintaxis de MDL es similar a cualquier sintaxis utilizada en un lenguaje de programación de alto nivel. Permite al usuario la definición de sus propias variables pero no es posible crear funciones ya que MDL no es un lenguaje de programación, por lo que no existen sentencias condicionales ni la posibilidad de crear bucles. El lenguaje de modelado MDL proporciona un conjunto de posibilidades a la hora de desarrollar un fichero de configuración:

- **Comentarios:** Son una herramienta de gran utilidad a la hora de programar con el fin de poder expresar en lenguaje comprensible para el usuario la finalidad de la sentencia que se está especificando.
- **Definición de variables:** MDL permite al usuario la definición de sus propias variables para poder clarificar el código
- **Definición de la distribución espacial:** Existen sentencias con las que es posible modificar los valores por defecto de la distribución espacial especificada por defecto en MDL.

- **Definición de parámetros de simulación:** Los parámetros de simulación son dos parámetros de obligada definición para el correcto funcionamiento del proceso de simulación. Hacen referencia al número de iteraciones y al intervalo de tiempo entre cada una de ellas.
- **Definición de objetos físicos y lógicos:** Los objetos físicos son aquellos objetos que ocupan un volumen en el espacio tridimensional. Los objetos lógicos representan pequeñas y grandes moléculas, y reacciones químicas entre este tipo de partículas.
- **Especificación de los datos de salida:** Los datos de salida proporcionados se enmarcan en dos tipos, por un lado, datos para visualización y por otro, datos numéricos sobre los que realizar un análisis posterior.

A continuación se presenta un esquema que especifica la estructura de los ficheros de configuración de las simulaciones en MCell.

Bloque	Descripción
INCLUDE FILE	Método opcional para incluir otros ficheros en el fichero actual
TIME STEP	Parámetro obligatorio que define el intervalo de tiempo entre dos iteraciones consecutivas
ITERATIONS	Parámetro obligatorio que define el número total de iteraciones de la simulación
SPATIAL DISTRIBUTIONS	Distribuciones espaciales utilizadas para inicializar la simulación
DEFINITION OF CHECKPOINTING	Método opcional para establecer puntos de control sobre la simulación
OBJECT DEFINITIONS	Métodos de definición de objetos tanto físicos como lógicos
OUTPUT SPECIFICATIONS	Funciones para definir el formato de salida de los datos ya sean datos para visualización como datos numéricos

**Tabla 3.2:** Estructura de los ficheros MDL

### 3.5.3. Visualizador DReAMM

El diseño de modelos, la edición y visualización de los mismos son esenciales para las simulaciones en microfisiología. Design, Render, and Animate MCell Models (DReAMM) es una herramienta que puede ser utilizada para importar y editar mallas extraídas de una reconstrucción tridimensional.

DReAMM es un programa de análisis y visualización diseñado para leer los ficheros de salida de visualización de tamaño prácticamente ilimitado proporcionados por la ejecución de una simulación con MCell, permitiendo elegir qué hacer y con qué nivel de detalle. DReAMM es capaz de tratar y visualizar grandes modelos sin hacer un consumo excesivo de memoria ya que por defecto, los datos importados no son reproducidos hasta que estos no son seleccionados por el usuario.

Esta herramienta proporciona la posibilidad de comprobar los modelos generados para MCell de forma visual, y verificar que cada uno de los componentes creados (localización de las moléculas, reacciones, geometría descrita) se ha especificado correctamente.



## Parte III

---

# **Diseño y desarrollo de la solución**



## Capítulo 4

---

# Planteamiento del problema

### 4.1. Introducción

La transmisión de la señal sináptica en el SNC se inicia cuando una vesícula sináptica se fusiona con la membrana de la neurona presináptica en la que está contenida, permitiendo al neurotransmisor difundir a través de la hendidura sináptica y unirse con receptores situados en la membrana de la neurona postsináptica. La simulación del proceso de transmisión sináptico a nivel de las moléculas que participan en él, permite estimar ciertos comportamientos relativos a las velocidades de disparo, el tiempo necesario para una nueva activación, la fiabilidad de las sinapsis o la posibilidad de que la difusión de un neurotransmisor afecte a conexiones sinápticas próximas, todas ellas cuestiones fundamentales para la comprensión del funcionamiento de los circuitos neuronales en los organismos vivos.

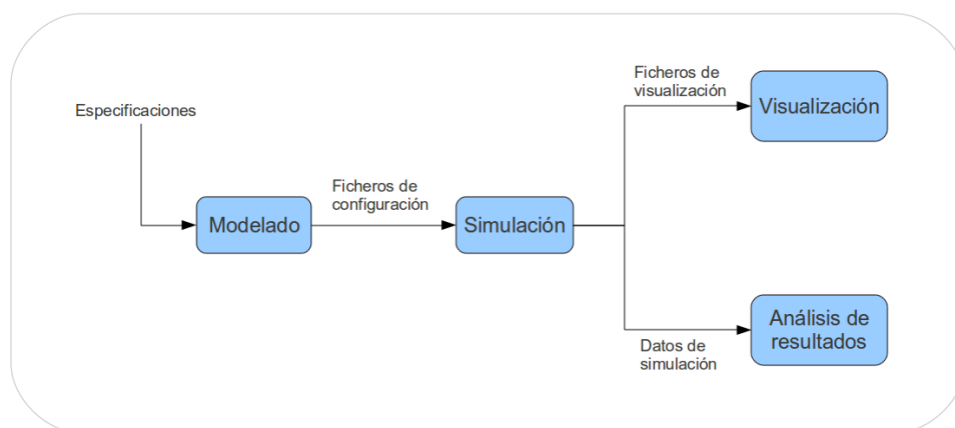
Este proyecto abarca el estudio y análisis de simulaciones a partir de modelos sobre sinapsis de carácter excitador en las que el neurotransmisor implicado es el glutamato y los receptores representados son receptores AMPA. El número de receptores AMPA que pueden encontrarse en una sinapsis es muy variable pero va en proporción al área sináptica. Tomar medidas sobre el porcentaje de receptores abiertos tras la liberación de una vesícula sináptica, o sacar conclusiones sobre si una sinapsis de mayor tamaño provocará un aumento en el tiempo que la molécula de neurotransmisor permanece en el interior de la sinapsis, son análisis inviables de realizar sobre una sinapsis real. Por todo ello, surge la necesidad de desarrollar un modelo biofísicamente realista de la activación de los receptores en una sinapsis que pueda ser simulado mediante la utilización de herramientas computacionales.

La tesis de máster que aquí se describe continúa la investigación surgida en un proyecto fin de carrera que consistió en el desarrollo de modelos de sinapsis a través de cuatro fases de refinamiento y complejidad progresiva, para simular la difusión del glutamato en una sinapsis entre dos neuronas de

la corteza cerebral. Para el desarrollo de estos modelos y su posterior simulación, se han utilizado tres herramientas: Blender, MCell y DReAMM.

El trabajo fin de carrera previo se dividió en cuatro fases de desarrollo donde se fue incrementando la complejidad y mejorando la geometría de los modelos. Una vez completadas las cuatro fases en el desarrollo del proyecto fin de carrera, se decide dar continuidad a la investigación a través de esta tesis de máster. En este caso, se trata de seguir aproximando el modelo a una sinapsis real modificando la morfología. Durante el proyecto anterior, la hendidura sináptica era representada como una superficie plana sin ningún tipo de curvatura. Sin embargo, en este caso, con el fin de aproximar el modelo a la morfología que se observa al microscopio, la sinapsis se representa como una superficie curva formada por un arco cóncavo y otro convexo.

Todas las simulaciones llevadas a cabo sobre los modelos, se componen principalmente de tres etapas: modelado, simulación y visualización o análisis de resultados. A la hora de representar los objetos del modelo, dichos objetos pueden ser objetos del mundo real como puede ser una dendrita o parte de una membrana, o reconstrucciones tridimensionales generadas por ordenador. Por otra parte, MCell permite al usuario definir objetos tridimensionales para simulación.



**Figura 4.1:** Etapas en el proceso de simulación

El objetivo fundamental del presente proyecto se centra en el proceso de construcción de un modelo que, a partir de datos reales de neuronas, sea capaz de proporcionar una simulación en la que se refleje la liberación del glutamato, en el centro de la hendidura sináptica. Sobre este modelo se estudia el efecto del tamaño de la geometría en la transmisión del impulso nervioso analizando la capacidad de apertura de los receptores. Además, se estudian los resultados obtenidos tras la ejecución de la simulación con el fin de extraer conclusiones acerca del funcionamiento de la transmisión de la señal sináptica en la corteza cerebral. A partir de ahí, se podrá analizar el efecto de la proximidad de los terminales, tanto inhibidores como excitadores, de los axones sobre los cuerpos celulares de forma que sirva de base para las interacciones no-sinápticas.

La idea es generar un modelo de sinapsis sencillo, que recoja los aspectos básicos de la liberación del neurotransmisor en una unión sináptica. Se van a obviar aspectos más complicados del funcionamiento de este mecanismo de comunicación neuronal para poder simplificar el modelo. El proyecto se centra en el momento de liberación de un neurotransmisor, que en este caso es el glutamato y por tanto se trata de una sinapsis excitadora, en el centro del elemento presináptico y de cómo este neurotransmisor interacciona con los receptores situados en la zona activa de la cabeza de la espina provocando así la activación del elemento postsináptico.



**Figura 4.2:** Liberación de neurotransmisor en una sinapsis. Zptech

Los datos obtenidos tras la ejecución de cada una de las simulaciones que se llevan a cabo, se analizan posteriormente con el fin de obtener conclusiones acerca del efecto de la modificación en la morfología de una sinapsis sobre la capacidad de activación de la misma. También se analiza la difusión de las moléculas de glutamato y se estudia cómo influye en esta difusión el hecho de aumentar el tamaño de las estructuras que forman la unión neuronal. Este estudio posterior sobre el neurotransmisor, se centra en la capacidad del mismo para difundir a lo largo del espacio extracelular.

El desarrollo de modelos que reflejen el sistema real, que en este caso es la unión entre dos neuronas pertenecientes a la corteza cerebral, y el posterior análisis de los resultados proporcionados por la ejecución de estos modelos utilizando herramientas de simulación, proporcionan una visión próxima a la realidad sobre el funcionamiento de la transmisión de la señal sináptica en la corteza.



# Desarrollo de la solución

### 5.1. Especificaciones previas

Las simulaciones se han llevado a cabo utilizando MCell (Stiles and Bartol, 2001), herramienta que utiliza los algoritmos de Monte Carlo diseñados para simular difusiones tridimensionales brownianas de paso aleatorio, además de reacciones tanto unimoleculares como bimoleculares, en entornos espaciales complejos reflejando de forma realista la ultraestructura celular. Por lo tanto, se puede estudiar el impacto de la organización subcelular en la evolución tanto espacial como temporal de los sistemas biomecánicos de difusiones y reacciones moleculares.

Desarrollar el modelo de este sistema biológico requiere de un conjunto de especificaciones necesarias para el correcto funcionamiento de la simulación que se llevará a cabo posteriormente:

- Se requiere especificar la geometría de las estructuras subcelulares del sistema. Debe proporcionarse la morfología de las mismas así como el tamaño de estas estructuras.
- Se deben indicar las moléculas pertenecientes al modelo especificando sus constantes de difusión y la posición inicial que ocuparán en el sistema modelado.
- La localización y morfología del lugar desde donde se iniciará el proceso de liberación de partículas en la sinapsis.
- Los mecanismos de reacción y las constantes de equilibrio que gobiernan la interacción entre las moléculas presentes en el modelo.
- Selección de un apropiado intervalo de tiempo entre cada iteración y de un correcto número de iteraciones con los cuales simular la evolución espacial y temporal del sistema.

Durante el proceso de construcción de los modelos, se consideran un total de cuatro parámetros cuyos valores serán modificados a lo largo del proyecto para obtener conclusiones sobre el efecto de estas variaciones en el sistema representado. Estos parámetros sobre los que se realizan modificaciones son los siguientes:

- Área de la zona activa, representado por la longitud del lado de dicha zona.
- Espacio exterior a la superficie sináptica indicado en porcentaje, que representa el tamaño de los elementos tanto pre como postsinápticos.
- Altura de la hendidura sináptica que representa el espacio de separación entre los elementos que forman la unión neuronal. Este parámetro junto con la superficie de la zona activa forman el volumen de la sinapsis.
- Densidad de receptores AMPA situados en el elemento postsináptico.

En la tabla 7.1 se recogen los valores de un conjunto de parámetros que no se verán modificados.

Nombre del parámetro	Valor	Descripción
Time step	1 $\mu$ s	Intervalo de tiempo entre dos iteraciones consecutivas
Iterations	40000	Número de iteraciones de la simulación
Num glu	5000	Número de moléculas de glutamato que serán liberadas
Dif glu	0.4 $cm^2/s$	Constante de difusión del glutamato
Dif AMPA	0 $cm^2/s$	Dado que el AMPA es una molécula que no difundirá en la simulación, su constante de difusión es 0

**Tabla 5.1:** Parámetros constantes del modelo

Se asume, que el contenido de partículas de una vesícula sináptica es de 5000 moléculas de glutamato aproximadamente [Bruns and Jahn, 1995].

Las propiedades de las moléculas que se definan son especificadas a través de comandos MDL. En este proyecto, la única propiedad que se ha definido para todas las moléculas del modelo es el coeficiente de difusión y las unidades de este parámetro son  $cm^2/s$ . En el caso del receptor AMPA, dado que va a ser un tipo de molécula que permanecerá inmóvil sobre la superficie del elemento postsináptico, el coeficiente que se le asigna es 0 representando así que este tipo de moléculas no va a tener movimiento.

Un parámetro crítico y desconocido es el coeficiente de difusión del glutamato. Este parámetro toma distintos valores según el medio en el que difunda el neurotransmisor, por ejemplo, en medios acuosos el coeficiente de difusión se estima en  $0.76\mu m^2/ms$  [Longworth, 1953]. En este caso, y teniendo en cuenta

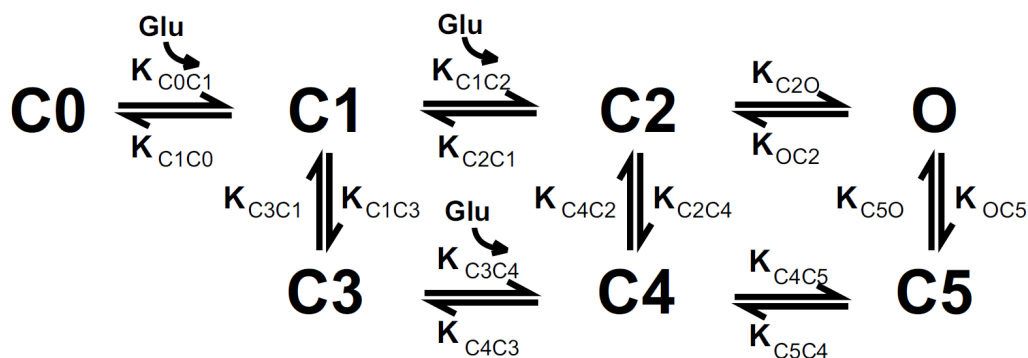


que vamos a analizar la difusión del glutamato en el interior de la hendidura sináptica, el valor que se ha tomado es  $0.4\mu\text{m}^2/\text{ms}$  [Atasoy et al., 2008], dicho valor es menor al tratarse de un medio más denso, poblado por proteínas de membrana que se extienden de un extremo a otro de la hendidura sináptica. Es, sin duda, un medio que dificulta, en una medida moderada, la circulación libre de moléculas en su difusión.

El time step hace referencia al intervalo de tiempo entre dos iteraciones consecutivas de la simulación. En MCell, las unidades de este parámetro vienen dadas en segundos y no tiene un valor por defecto por lo que es imprescindible asociarle un valor concreto para que el simulador ejecute sin errores. La precisión numérica en las simulaciones con MCell dependen fundamentalmente de la duración de este parámetro. Para el presente proyecto se ha establecido un time step de  $1\mu\text{s}$ .

El comando ITERATIONS de MDL define el número de iteraciones que se ejecutarán en una simulación. Tampoco hay valor por defecto en este caso, razón por la cual es necesario la especificación de un valor concreto para el mismo. En este caso, se han establecido 40000 iteraciones que con un time step de  $1\mu\text{s}$ , corresponde con un tiempo total de simulación de 40ms.

Por otra parte, en el modelo se debe especificar un esquema que represente la activación del receptor AMPA. Este esquema se ha tomado de la literatura [Jonas et al., 1993] y representa cada uno de los estados por los que pasa el receptor AMPA desde el inicio, cuando permanece cerrado, hasta llegar al estado de apertura.



**Figura 5.1:** Esquema de activación del receptor AMPA. [Jonas et al., 1993]

Después del momento de liberación, el neurotransmisor difunde a través de la hendidura sináptica activando las moléculas de receptor AMPA. Antes de producirse el evento de liberación, todas las moléculas de AMPA están en el estado CO o estado completamente cerrado. El glutamato al unirse a los receptores situados en la cabeza de la espina o elemento postsináptico, provoca un cambio de estado de acuerdo al esquema presentado. En la tabla representada a continuación, se establecen unas constantes de velocidad para cada uno de los estados por los que pasa el receptor.

Parámetro	Símbolo	Valor
Constante de primera asociación	KC0C1	$4.59 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$
Constante de primera disociación	KC1C0	$4.26 \times 10^3 s^{-1}$
Constante de segunda asociación	KC1C2	$2.84 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$
Constante de segunda disociación	KC2C1	$3.26 \times 10^3 s^{-1}$
Constante de apertura del canal	KC2O	$4.24 \times 10^3 s^{-1}$
Constante de cierre del canal	KOC2	$900 s^{-1}$
Constante de desensibilización de C1 a C3	KC1C3	$2.89 \times 10^3 s^{-1}$
Constante de resensibilización de C3 a C1	KC3C1	$39.2 s^{-1}$
Constante de asociación de C3 a C4	KC3C4	$1.27 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$
Constante de disociación de C4 a C3	KC4C3	$45.7 s^{-1}$
Constante de desensibilización de C2 a C4	KC2C4	$172 s^{-1}$
Constante de resensibilización de C4 a C2	KC4C2	$0.727 s^{-1}$
Constante de isomerización de C4 a C5	KC4C5	$16.8 s^{-1}$
Constante de isomerización de C5 a C4	KC5C4	$190.4 s^{-1}$
Constante de desensibilización de O a C5	KOC5	$17.7 s^{-1}$
Constante de resensibilización de C5 a O	KC5O	$4.0 s^{-1}$

**Tabla 5.2:** Constantes de velocidad del modelo de activación del AMPA. Jonas et al

### 5.1.1. Aproximación a una sinapsis real

#### 5.1.1.1. Objetivos y alcance

Las sinapsis glutamatérgicas representan aproximadamente el 80% de las sinapsis en el sistema nervioso central y tienen lugar generalmente en espinas dendríticas (Harris y Kater, 1994). Los elementos presináptico y postsináptico que forman las sinapsis en el SNC están incluidos dentro de un complejo medio celular denominado neuropilo.

El objetivo final marcado, es la construcción de modelos de sinapsis excitativas que traten de aproximarse morfológicamente a la realidad observada en el tejido. Por tanto, se han desarrollado modelos biofísicamente realista de la activación del receptor AMPA en una sinapsis glutamatérgica idealizada, utilizando técnicas de Monte Carlo para simular la naturaleza estocástica de la transmisión producida tras la liberación una vesícula sináptica. La difusión modelada es una difusión isotrópica de 5000 moléculas de neurotransmisor liberadas desde un punto central del elemento presináptico. Estudios recientes estiman que en una vesícula sináptica hay almacenadas entre 4000 y 5000 moléculas [L.P.Savtchenko and D.A.Rusakov, 2004]. Por tanto, el valor tomado para las simulaciones es de 5000 moléculas.

Para llevar a cabo esta aproximación en la morfología se ha utilizado Blender como herramienta de diseño de las estructuras. Esta herramienta de modelado 3D permite crear sus propios elementos dándoles el tamaño deseado y una vez creados, permite exportar los ficheros a formato MDL para que puedan ser incluidos en el proyecto.

El hecho de modificar la morfología de las estructuras que conforman el modelo puede hacer pensar que estos cambios provocarán modificaciones en la capacidad de apertura de los receptores o en la difusión del neurotransmisor. Esto será lo que se lleve a estudio en este proyecto, comparando los resultados obtenidos con resultados previos para concluir cómo afecta la morfología de los elementos en el proceso sináptico.

Nombre del parámetro	Valor	Descripción
Time step	$1 \mu s$	Intervalo de tiempo entre dos iteraciones consecutivas
Iterations	40000	Número de iteraciones de la simulación
Num glu	5000	Número de moléculas de glutamato que serán liberadas
Dif glu	$0.2 \mu m^{-2}$	Constante de difusión del glutamato
Dif AMPA	$0 \mu m^{-2}$	Dado que el AMPA es una molécula que no difundirá durante la simulación su constante de difusión es 0
Ejecuciones	1	Número de veces que se ha ejecutado la simulación del modelo
Plataforma(SO/Arquitectura)	Ubuntu 10.04	SO sobre el que se han llevado a cabo las simulaciones
Versión MCell	MCell 3	Versión de MCell utilizada en las simulaciones

**Tabla 5.3:** Parámetros de los modelos sinápticos

Las estructuras biológicas que han sido representadas en los modelos de sinapsis son las siguientes:

- **Botón presináptico:** El botón presináptico es el elemento que iniciará el proceso sináptico. Dicho elemento posee unas vesículas que contienen en su interior las moléculas de neurotransmisor que serán liberadas en la hendidura sináptica. En el modelo construido no se han representado estas vesículas por lo que el neurotransmisor es liberado desde un punto central del elemento presináptico emulando el momento en que una vesícula libera las moléculas de neurotransmisor. El proceso de liberación se lleva a cabo de una sola vez, es decir, todas las moléculas son expulsadas al mismo tiempo y en el momento de iniciarse la simulación.
- **Cabeza de la espina:** La cabeza de la espina representa el elemento postsináptico. Es la región de la neurona que recibe el impulso nervioso causado por el neurotransmisor tras haber cruzado la hendidura sináptica.

- **Densidad postsináptica:** La densidad postsináptica hace referencia a la cantidad de receptores existentes en la membrana postsináptica. En el modelo, los receptores están situados en una superficie perteneciente a la cabeza de la espina la cual se denomina zona activa.
- **Hendidura sináptica:** La hendidura sináptica representa el volumen de la sinapsis, es decir, el volumen comprendido entre los elementos pre y postsinápticos.
- **Neurotransmisor:** La sinapsis que se representa en este modelo es una sinapsis excitadora y uno de los neurotransmisores excitadores más conocidos es el glutamato. Por tanto en este caso, el neurotransmisor que se libera desde el botón presináptico es el glutamato. La cantidad de moléculas liberadas en un punto central representando una vesícula sináptica es de 5000 partículas.
- **Receptores del neurotransmisor:** En este modelo sólo se ha tenido en cuenta un tipo de receptor de glutamato, el receptor AMPA, obviando otro tipo de receptores como el NMDA o los receptores de kainato.

### 5.1.1.2. Desarrollo del proceso

El proceso de desarrollo del modelo de la sinapsis comienza con la definición de estructuras que desean representarse. Como ya se ha mencionado previamente, las estructuras básicas que componen el modelo son, el botón presináptico y la cabeza de la espina, y como moléculas, el glutamato y los receptores AMPA. Estas estructuras y partículas deben de ser definidas en ficheros de configuración para que la herramienta de simulación MCell pueda llevar a cabo la simulación del modelo.

El lenguaje utilizado en estos ficheros de configuración es MDL. La sintaxis de MDL es similar a cualquier sintaxis utilizada en un lenguaje de programación de alto nivel. Permite al usuario la definición de sus propias variables pero no es posible crear funciones propias ya que MDL no es un lenguaje de programación, por lo que no existen las sentencias para definir bucles ni sentencias condicionales.

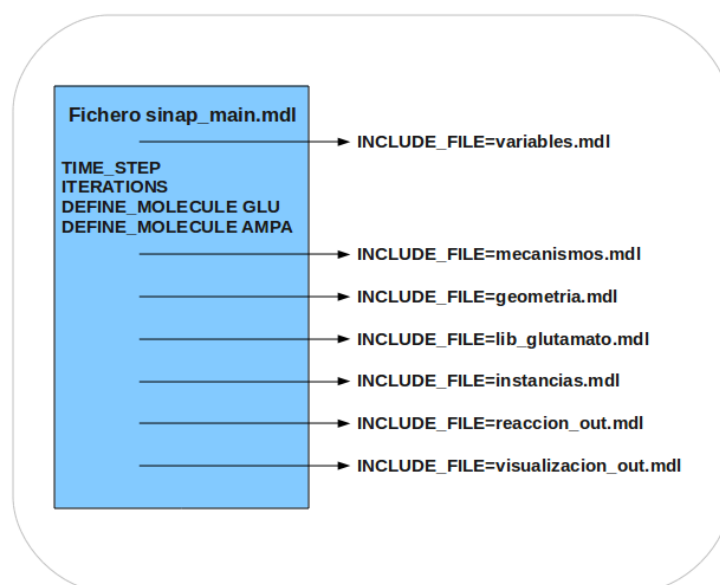
Los ficheros MDL son dependientes del orden, es decir, cada vez que se ejecute MCell con un fichero MDL como entrada, el fichero será interpretado por el simulador de arriba hacia abajo. La inicialización se llevará a cabo durante el proceso de análisis del fichero MDL. En la figura 5.2 se muestra cuál es la estructura y el orden que deben seguir los ficheros MDL que se generen. En este sentido y dado que existe la posibilidad de importar ficheros, para clarificar el código se han desarrollado once ficheros con objetivos diferenciados.

- **sinap.main.mdl:** Se trata del fichero 'main', el encargado de hacer correr la simulación. Hace llamadas a otros ficheros necesarios para una correcta ejecución de la simulación. En él se definen

los dos parámetros de simulación imprescindibles: 'iterations' y 'time step', el producto de ambos conforman el tiempo total de simulación.

En último lugar, se instancian los objetos físicos y lógicos con el fin de incluirlos en la simulación, dado que sólo los objetos instanciados podrán aparecer en la posterior visualización del modelo simulado.

- **moleculas.mdl:** En este fichero, se especifica el neurotransmisor a difundir, siendo en este caso el glutamato, indicando únicamente su constante de difusión. También se incluye en este apartado el receptor AMPA, definiendo un tipo de molécula por cada estado posible del receptor. En este caso y dado que se trata de una molécula de superficie y por tanto no se moverá en el espacio, su constante de difusión ha sido fijada a cero.



**Figura 5.2:** Jerarquía de los ficheros del modelo

- **variables.mdl:** Este fichero contiene la mayor parte de variables que pueden ser modificadas según se desee de un ensayo a otro. Se especifican los valores de las constantes de difusión de las moléculas, la densidad de receptores AMPA, el número de moléculas de glutamato a liberar, así como las constantes de velocidad del modelo cinético del receptor AMPA.
- **mecanismos.mdl:** En este fichero se describe el esquema cinético utilizado para modelar la activación del receptor AMPA. Cada estado dentro de un mecanismo implica definir una molécula a la cual hay que asignarle un nombre, en este caso los estados del AMPA reciben los siguientes nombres: C0, C1, C2, C3, C4, C5, O, siendo el último estado el que describe un receptor abierto. A

cada uno de estos estados les corresponde una lista de posibles transiciones, una para cada estado adyacente. Son estas transiciones las que se definen en este fichero.

- **lib\_glutamato.mdl:** En este fichero se define la liberación en la sinapsis de las moléculas de neurotransmisor, con el número concreto y los tiempos especificados en `variables.mdl`. Por un lado, se describe el lugar de liberación de las moléculas, especificando su localización, el tipo de molécula a liberar, la cantidad de neurotransmisor, el diámetro del lugar de liberación (en este caso el diámetro es 0, pues queremos que sea un punto), el patrón de liberación y la probabilidad del evento, situando esta última a 1 lo que significa que el suceso ocurrirá siempre.

El patrón de liberación se ha definido en un conjunto de sentencias aparte pues puede tener numerosas variables con el fin de poder jugar con el evento de liberación del neurotransmisor. Los parámetros que pueden ser modificados hacen referencia al momento de la liberación así como de qué forma puede llevarse a cabo ésta, si en trenes de liberación separados por un determinado tiempo o por otra parte, liberando todas las moléculas de una vez.

En este caso, el neurotransmisor es liberado de una sola vez dado que se define un sólo tren de liberación con una duración de  $1\mu s$ , además se le aplica un retraso de  $1\mu s$  a la liberación respecto del inicio de la simulación. El punto de liberación se localiza en el centro de la superficie del botón presináptico orientada hacia la sinapsis.

- **sin\_boton.mdl, sin\_espina.mdl y sin\_sinapsis.mdl:** Estos tres ficheros son el resultado de exportar el modelo de sinapsis creado. Representan el botón presináptico, la cabeza de la espina y el volumen de la sinapsis, respectivamente. Cada uno de estos ficheros, está formado por una lista de vértices de los triángulos que forman las mallas de los objetos y una lista de la unión entre estos vértices.
- **modificacion\_regiones.mdl:** En este fichero, se modifican las propiedades de la zona activa de la cabeza de la espina para poder situar sobre dicha zona una densidad de receptores AMPA.
- **reaccion\_out.mdl:** Este fichero contiene una serie de bloques de instrucciones que especifican el contenido y los tiempos de las reacciones de la simulación con el fin de poder ser contados y mostrados. Cada una de estas sentencias genera un archivo de salida al que se debe proporcionar un nombre, y contiene datos de texto ASCII organizados en columnas. En la primera de las columnas se recoge el tiempo de simulación y en la segunda de ellas lo que estemos analizando en cada sentencia.

En concreto, se ha analizado la concentración de neurotransmisor en la hendidura sináptica y el número de receptores AMPA que se hallan en cada uno de los siete estados posibles.

- **visualizacion\_out.mdl:** En este fichero se recogen las sentencias necesarias para establecer el contenido, el formato y el momento en el que se va a generar la salida de los datos de la simulación para su posterior visualización tridimensional.

Durante este proyecto, no se genera sólo un modelo de sinapsis, si no que mediante la combinación de los valores posibles de cuatro parámetros que definen la geometría del mismo, se crean un total de 150 modelos de sinapsis diferentes entre si. Se toman cinco valores distintos para el tamaño de la sinapsis, otros cinco valores para el espacio que rodea a la sinapsis, existen dos posibles valores para la distancia que separa el elemento presináptico del postsináptico (hendidura sináptica) y por último tres valores distintos para la densidad de receptores en la zona activa de la cabeza de la espina.

Nombre del parámetro	Valores posibles
Longitud de lado de la zona activa	150 nm, 300 nm, 450 nm, 600 nm y 750 nm
Espacio exterior a la superficie sináptica	0 %, 25 %, 50 %, 75 % y 100 %
Altura de la hendidura sináptica	15 nm y 20 nm
Densidad de receptores	1000, 2000 y 3000 receptores por $\mu m^2$

**Tabla 5.4:** Parámetros a estudio del modelo

Los cinco posibles valores que se toman para representar el lado de la zona activa de la cabeza de la espina, se ajustan al tamaño de sinapsis existentes en la corteza cerebral. Se representan desde las sinapsis más pequeñas con un tamaño aproximado de 150 nm de lado, hasta las sinapsis más grandes con 750 nm de lado.

El espacio exterior que rodea a la sinapsis se ha fijado con cinco valores dependientes del lado de la sinapsis. Es decir, una sinapsis de 150 nm de lado y con 0 % de espacio exterior, será una sinapsis cuya zona activa ocupe toda la superficie de la cabeza de la espina, por lo que el tamaño del lado del cubo que representa tanto la cabeza de la espina como el botón presináptico será de 150 nm.

Las neuronas que intervienen en sinapsis químicas están separadas por una hendidura sináptica de entre 12 y 20 nm [Savtchenko and Rusakov, 2007], por lo que tomando los valores 15 y 20 nm se consideran un amplio rango de longitudes de la hendidura sináptica.

En cuanto a la densidad de receptores, se estima que el límite inferior de esta densidad está en 900 receptores por  $\mu m^2$  [Momiya et al., 2003]. Con los valores que aquí se representan se recorre prácticamente todo el rango de posibles valores para este parámetro.

La creación de modelos espaciales realistas comienza con la definición de su arquitectura o geometría celular, seguida de la inclusión de especies bioquímicas y su interacción con la geometría definida. Para

construir un modelo, se deben crear de alguna manera las superficies y definir cuántas moléculas y de qué tipo van a estar presentes en las diferentes regiones espaciales.

En este proyecto primero se crea la geometría del modelo utilizando Blender y una vez hecho esto se exportará el modelo a ficheros MDL utilizando los plug-ins que proporciona esta herramienta para poder ser utilizadas por MCell. Posteriormente se utiliza MDL para especificar los tipos de moléculas presentes en el modelo, los autómatas que representan los diagramas de transición de estados de los receptores y qué tipos de datos se requieren como salida del simulador.

Por tanto, al utilizar Blender debemos exportar nuestros modelos a formato MDL. En cada uno de los modelos creados se representan tres objetos distintos, la cabeza de la espina, el botón presináptico y el volumen de la sinapsis. A la hora de exportar estos objetos, Blender creará un fichero de coordenadas de puntos para cada objeto, por tanto, habrá un fichero que defina las coordenadas del elemento presináptico, otro que defina las coordenadas del elemento postsináptico y por último un fichero que represente el volumen de la sinapsis.

Un ejemplo de cual es la salida que Blender proporciona al exportar uno de estos objetos a un fichero MDL es la siguiente:

```
espina POLYGON_LIST {  
VERTEX_LIST {  
[0.18340685963630676, 0.0, -0.019999176263809204]  
[0.18340685963630676, 0.0, -0.092962950468063354]  
[0.066114470362663269, 0.027385510504245758, -0.22924652695655823]
```

Por tanto, Blender proporciona un fichero por cada objeto, representando al elemento como un polígono y proporcionando una lista de vértices, dando las coordenadas de cada uno de los vértices del polígono que forma el objeto. Dado que se ha presentado un ejemplo del objeto que da lugar a la cabeza de la espina, cabe indicar que este elemento tendrá definida una región especial correspondiente a la zona activa donde posteriormente se incluirán los receptores del glutamato. La forma en la que Blender representa esta región es la siguiente:

```
DEFINE_SURFACE_REGIONS {  
mat_psd {  
ELEMENT_LIST = [46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 55, 56, 57, 58, 59, 62, 63, 64, 67,  
71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 80, 81, 82, 83, 84, 87, 88, 89, 92, 94, 97, 98,  
99, 100, 101, 102, 103, 106, 107, 108, 109, 110, 113, 114, 115, 118, 120,  
123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 132, 133, 134, 135, 136, 139, 140, 141,
```



```

144, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 157, 158, 159, 160, 161, 164, 165,
166, 169, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 182, 183, 184}
}

```

Con el mandato `DEFINE_SURFACE_REGIONS` se especifican las características propias de las regiones que se definan sobre el objeto `CabezaEspina`. En este caso se ha definido una región denominada `PSD` que corresponde con la zona activa que contendrá los receptores.

### 5.1.1.3. Resultados obtenidos

En este apartado se comentan los resultados obtenidos para 6 modelos de los 150 desarrollados en el proceso, con el fin de compararlos con 6 modelos de las mismas características geométricas pero de diferentes morfología desarrollados en proyectos previos, y así analizar el efecto de la modificación de la morfología sobre la difusión del neurotransmisor en la sinapsis y la capacidad de apertura de los receptores AMPA situados sobre la zona activa de la cabeza de la espina.

La realización de las gráficas que aquí se presentan se han llevado a cabo utilizando los resultados obtenidos tras la ejecución de las simulaciones, dado que previamente han sido especificadas las sentencias necesarias para obtener el número de receptores AMPA y el número de moléculas de glutamato presentes en la hendidura sináptica para cada instante de tiempo.

En la tabla 5.5 se especifica el valor de los parámetros de las 6 configuraciones que se van a someter a análisis. Se seleccionan 3 valores distintos de tamaño de la sinapsis, con distintos porcentajes de espacio exterior y los dos valores posibles de hendidura sináptica junto con un solo valor para la densidad de receptores. Se realiza una simulación para cada una de estas 6 configuraciones tanto en la morfología de arco desarrollada en esta tesis como en las morfologías cúbicas previamente desarrolladas. De esta forma, se podrán analizar los resultados obtenidos comparando la antigua morfología con la nueva desarrollada y ver como afecta en la difusión del glutamato y en la apertura de receptores AMPA.

Configuración	Tamaño de la sinapsis	Espacio exterior	Hendidura sináptica	Receptores
AMPA1-1	450nm	25 %	20nm	1000 $\mu\text{m}^2$
AMPA1-2	450nm	75 %	20nm	1000 $\mu\text{m}^2$
AMPA1-3	600nm	50 %	15nm	1000 $\mu\text{m}^2$
AMPA1-4	600nm	100 %	15nm	1000 $\mu\text{m}^2$
AMPA1-5	750nm	50 %	20nm	1000 $\mu\text{m}^2$
AMPA1-6	750nm	100 %	20nm	1000 $\mu\text{m}^2$

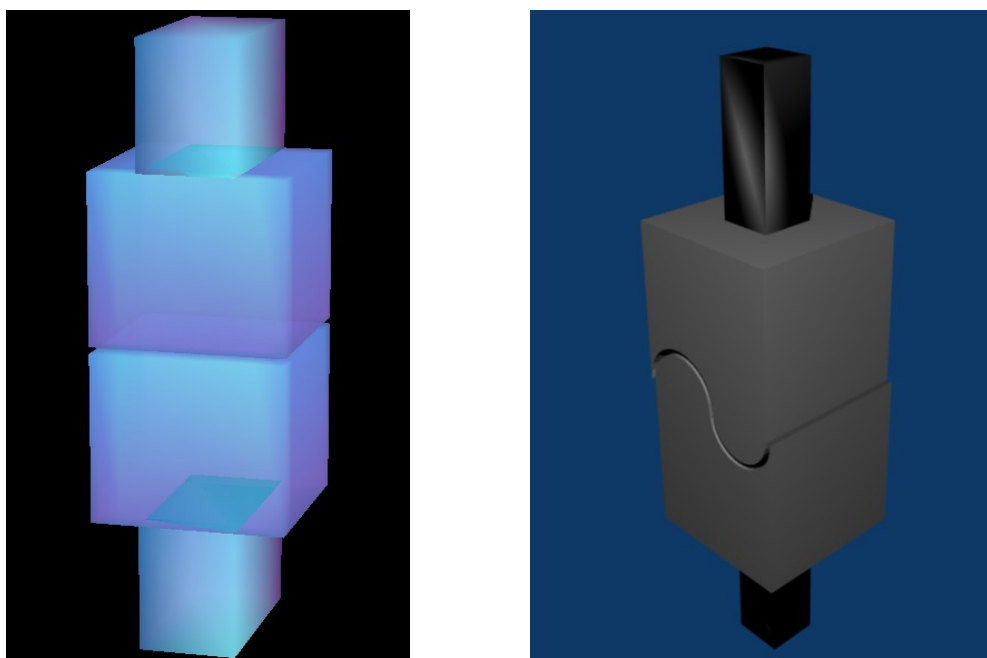
**Tabla 5.5:** Descripción de las configuraciones a estudio

Para cada una de estas 6 configuraciones se presentan dos gráficas, en primer lugar se muestra la concentración de glutamato en el volumen de la sinapsis y en segundo lugar se indica el porcentaje de receptores que alcanzan el estado abierto en cada simulación. Cada gráfica recoge resultados de morfologías cúbicas y de morfologías de arco. Presentar los resultados de forma conjunta, permite observar con mayor sencillez el efecto de la morfología sobre la transmisión sináptica.

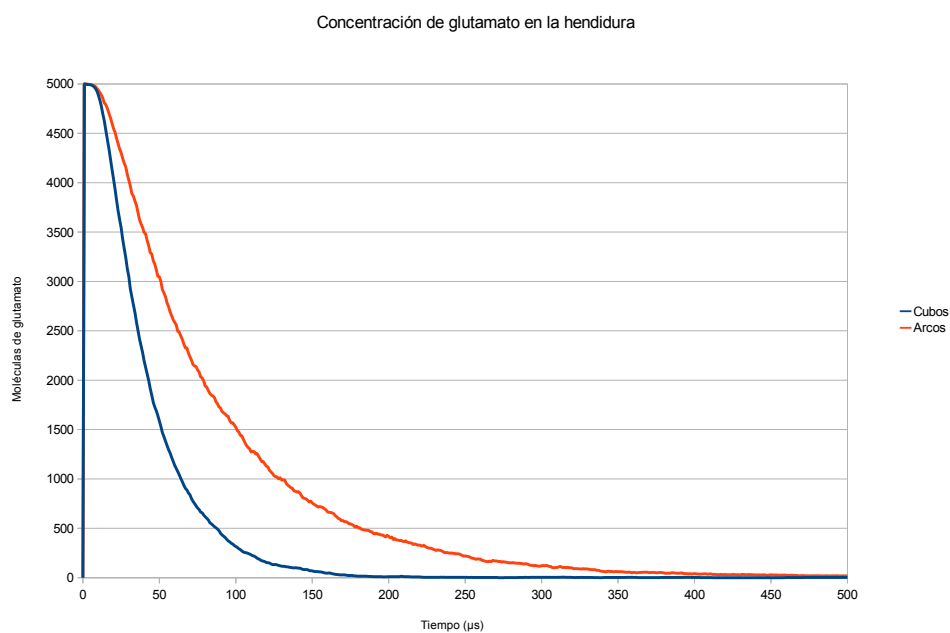
Como se ha comentado previamente, los resultados de las simulaciones que se lleven a cabo en MCell pueden ser de dos tipos. Por un lado, datos en formato ASCII que son los datos que se acaban de comentar, y por otro lado, datos para ser procesados con herramientas de visualización. Para este proyecto, la herramienta seleccionada para analizar los datos de visualización es DReAMM por su compatibilidad con MCell.

Cada una de las 6 configuraciones ha sido simulada una vez con un time-step de  $1\ \mu\text{s}$  y 40000 iteraciones para obtener un tiempo total de simulación de 40 ms. Sin embargo y para facilitar la observación, en las gráficas de la concentración del glutamato, se presentan los resultados para los primeros  $500\ \mu\text{s}$ .

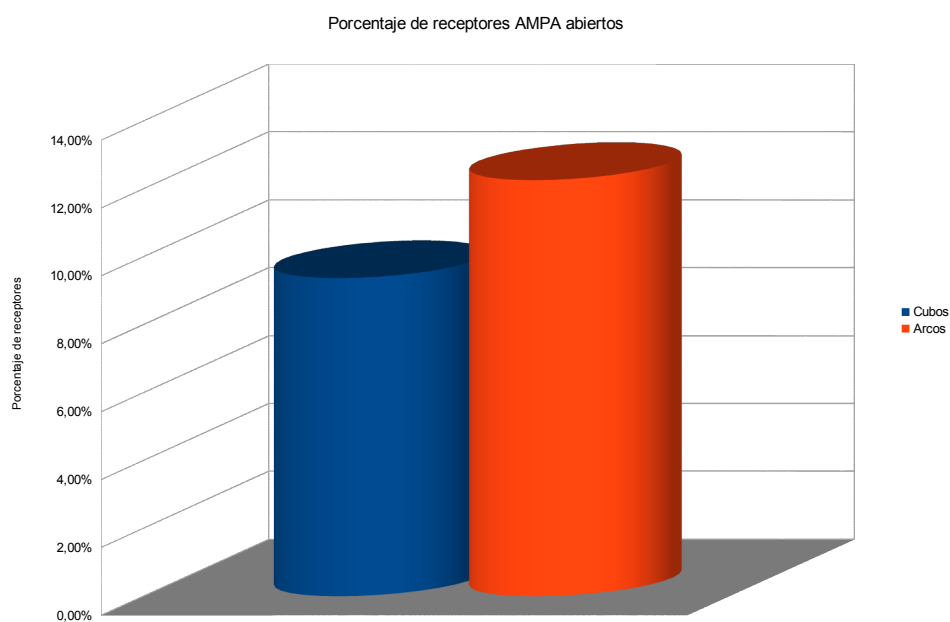
En la figura 5.3 se presentan las dos morfologías de sinapsis que son sometidas a análisis para comprobar el efecto sobre la difusión del neurotransmisor liberado.



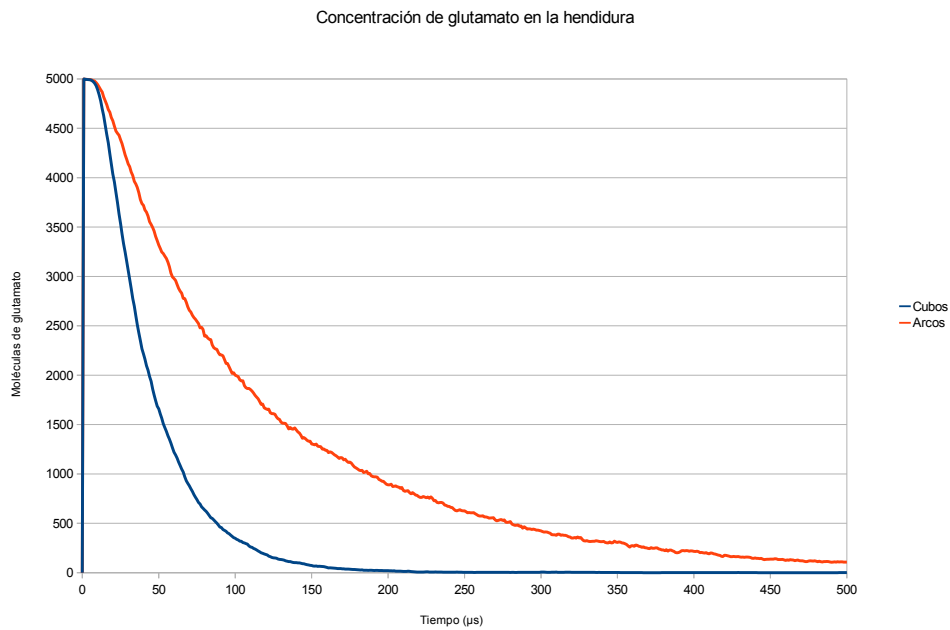
**Figura 5.3:** Morfologías de sinapsis desarrolladas



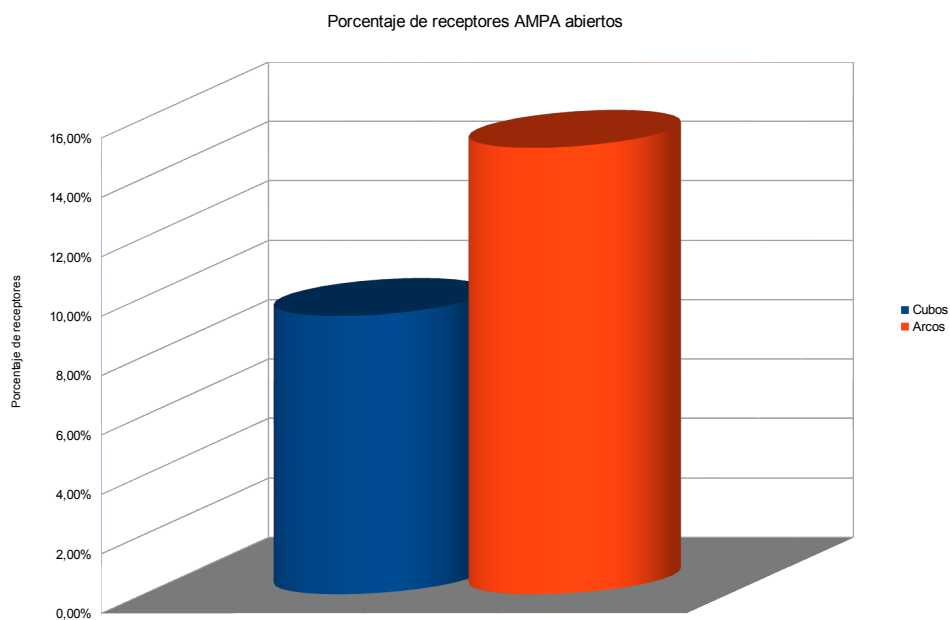
**Figura 5.4:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-1



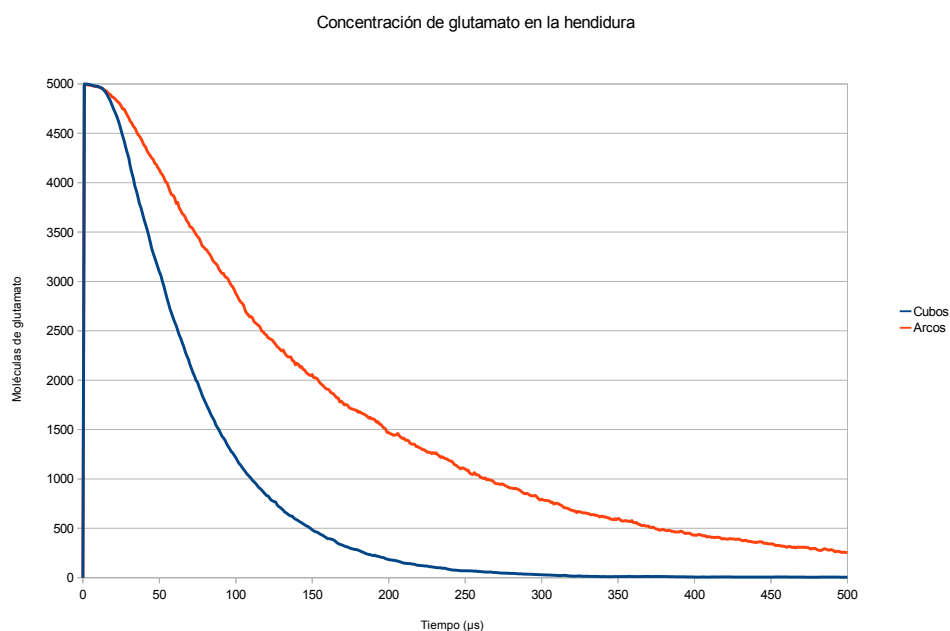
**Figura 5.5:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-1



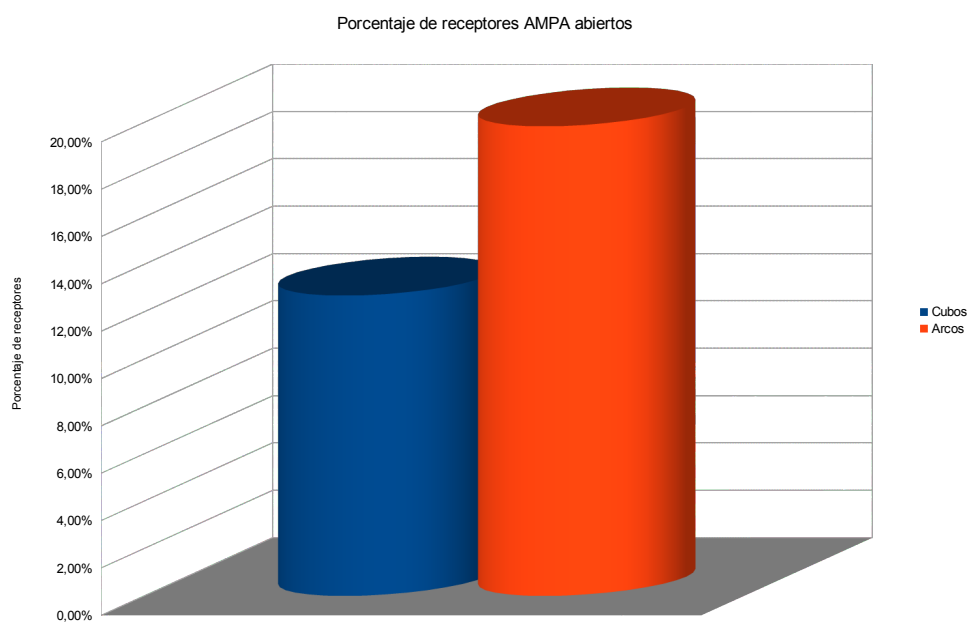
**Figura 5.6:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-2



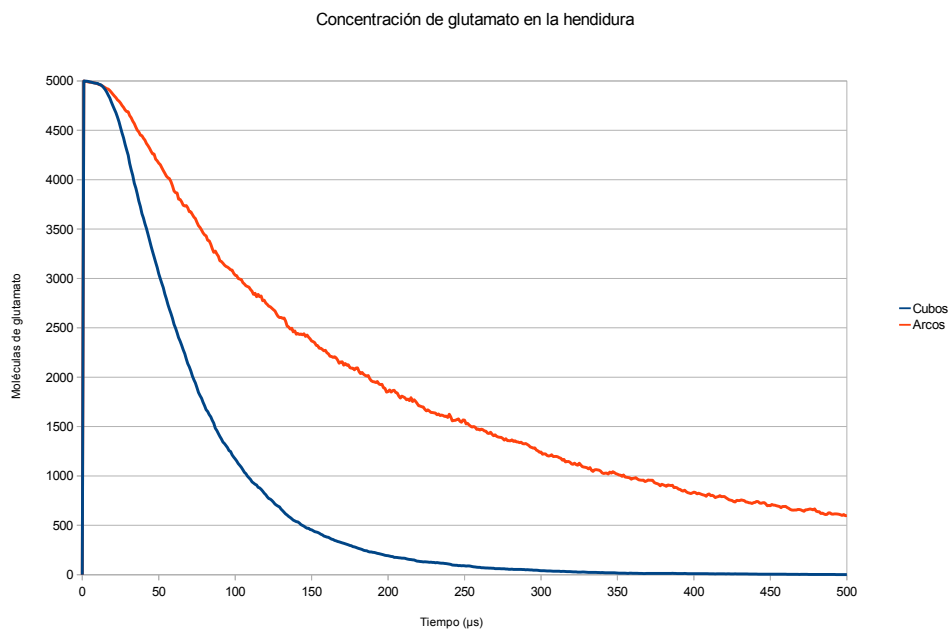
**Figura 5.7:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-2



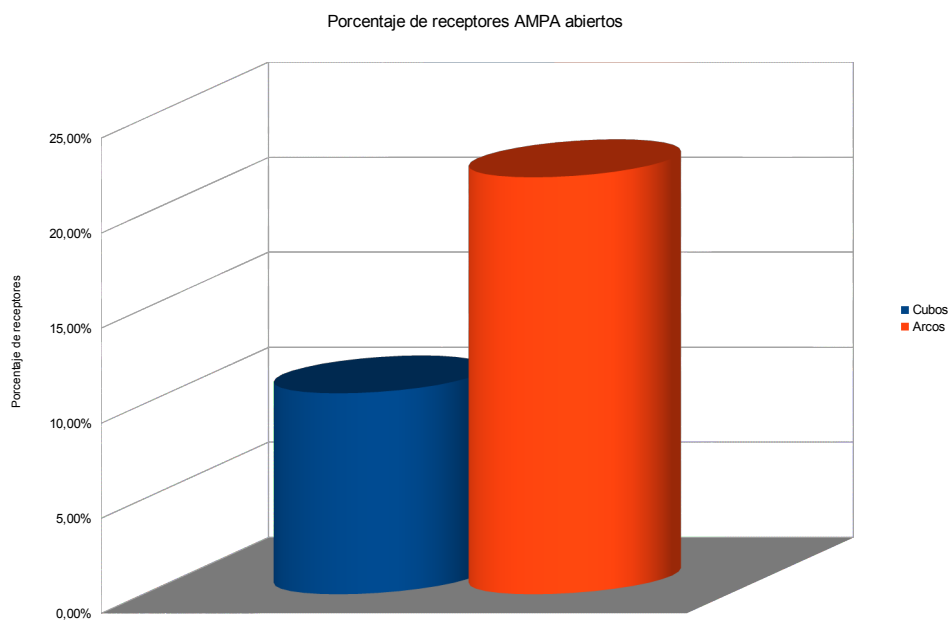
**Figura 5.8:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-3



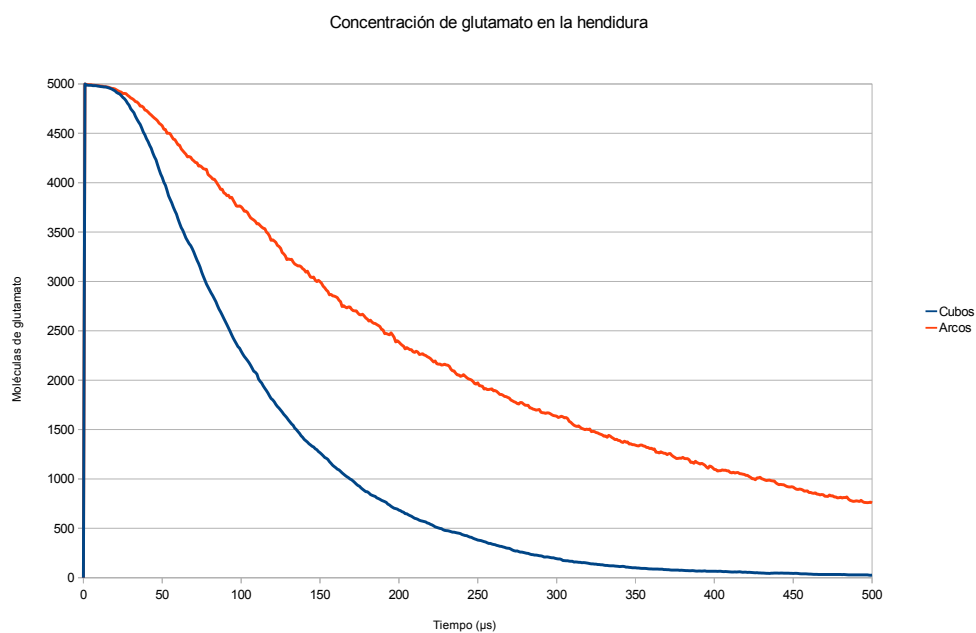
**Figura 5.9:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-3



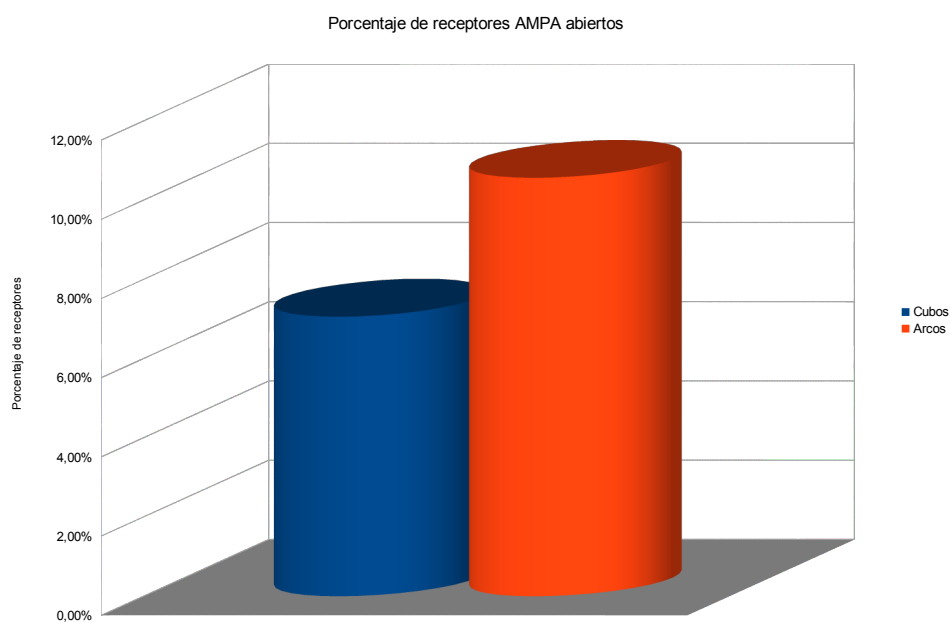
**Figura 5.10:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-4



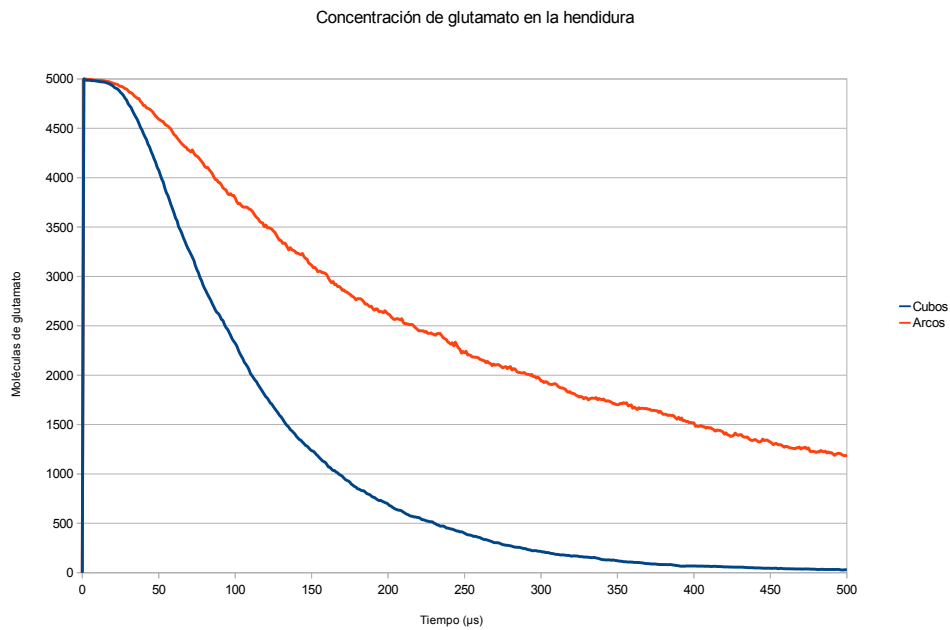
**Figura 5.11:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-4



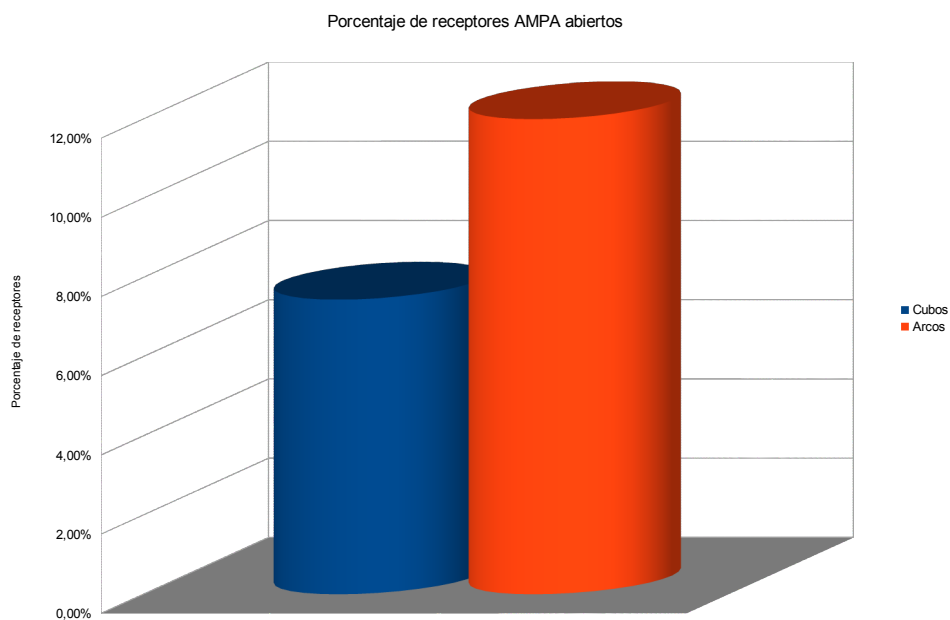
**Figura 5.12:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-5



**Figura 5.13:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-5



**Figura 5.14:** Concentración de glutamato en la hendidura sináptica en la configuración AMPA1-6



**Figura 5.15:** Activación del receptor AMPA en la configuración AMPA1-6



Una vez presentadas las gráficas que recogen los resultados de las simulaciones sobre cada una de las 6 configuraciones en las 2 morfologías presentadas, puede observarse como la morfología en arco retiene durante un periodo de tiempo más elevado las moléculas de glutamato en el interior del volumen sináptico (figuras 5.4, 5.6 , 5.8 , 5.10 , 5.12 , 5.14). La curva para esta morfología tiene una caída más lenta, lo que indica que las partículas de neurotransmisor abandonan el volumen sináptico de forma más lenta que en el caso de las morfologías cúbicas.

El efecto de este aumento de tiempo en el interior de la sinapsis por parte del glutamato, se observa en las gráficas de activación del receptor AMPA (figuras 5.5, 5.7 , 5.9 , 5.11 , 5.13 , 5.15). En cada una de estas gráficas se presenta por cada morfología el porcentaje de receptores máximo que llegan a abrirse en una simulación. En todos los casos, las morfologías en arco presentan un porcentaje mayor de receptores abiertos al compararlos con los porcentajes en el caso de morfologías cúbicas. Es evidente que al permanecer más tiempo el glutamato en el interior de la sinapsis aumentan las probabilidades de que el neurotransmisor reaccione con los receptores AMPA situados en la cabeza de la espina, y por tanto el porcentaje de receptores que alcanzan el estado abierto es mayor en las morfologías en arco que en las morfologías cúbicas.

Puede pensarse por tanto, que las sinapsis que se lleven a cabo en el cerebro y que necesiten realizarse sin ningún fallo tendrán una morfología que permita retener el neurotransmisor durante más tiempo en el interior de la sinapsis, para así aumentar las probabilidades de reacción con los receptores y aumentar también el número total de receptores abiertos.



Parte IV

---

## **Conclusiones y líneas futuras**



## Capítulo 6

---

# Conclusiones y Líneas Futuras

### 6.1. Conclusiones

En el transcurso de la realización de esta tesis se han alcanzado los objetivos expuestos en el primer capítulo de la misma, sobre el diseño de un conjunto de modelos geoméricamente complejos de una sinapsis glutamatérgica que incluya figuras renderizadas mediante la utilización de herramientas 3D. Además, se ha llevado a cabo la simulación de los modelos mediante el uso de herramientas de modelado para simulación realista en entornos subcelulares. Finalmente, sobre los modelos construidos se ha realizado un exhaustivo análisis de los resultados obtenidos tras la ejecución de las simulaciones sacando importantes conclusiones.

Una vez realizado el estudio de los resultados obtenidos, se puede decir que la utilización de las técnicas de simulación en el ámbito de la neurociencia, supone una gran ventaja en la resolución de problemas en este campo de estudio.

De los resultados obtenidos, se concluye que la morfología del modelo sináptico es un factor importante en el desarrollo y funcionamiento de una sinapsis de carácter excitador como la que aquí se representa. El neurotransmisor difunde por la hendidura sináptica una vez es liberado desde el elemento presináptico, la forma que adquiere el volumen sináptico influye en la capacidad de difundir del glutamato. Al representar la hendidura sináptica con una morfología en arco, el neurotransmisor permanece más tiempo en el interior de la sinapsis aumentando las probabilidades de que el neurotransmisor reaccione con los receptores AMPA situados en la cabeza de la espina, y por tanto el porcentaje de receptores que alcanzan el estado abierto es mayor en las morfologías en arco que en las morfologías cúbicas.

## 6.2. Líneas futuras

Existen varias líneas futuras que se plantean para llevar a cabo en un futuro próximo.

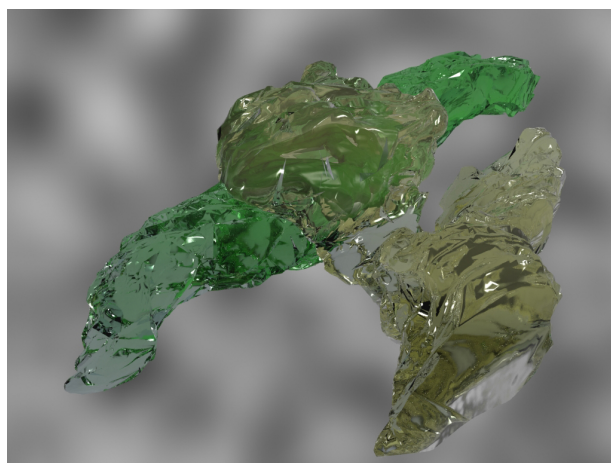
Por una parte, durante esta tesis los datos obtenidos corresponden con una sola simulación por modelo de sinapsis. Se plantea la ejecución de un conjunto de simulaciones para cada configuración, utilizando distintas semillas en el simulador con el fin de sacar valores medios del total de ejecuciones.

Durante este proyecto, existen un conjunto de parámetros que permanecen estáticos y no se analizan, como por ejemplo el coeficiente de difusión del glutamato, o el número de partículas de neurotransmisor liberadas. Se plantea, el poder utilizar dos valores distintos de coeficiente de difusión de glutamato, especificando un valor para cuando el glutamato difunda en el interior de la hendidura sináptica y otro para cuando el neurotransmisor salga al exterior de este volumen sináptico. Por otra parte, sería interesante analizar como afecta a la activación del AMPA liberar un número mayor o menor de moléculas de neurotransmisor.

Siguiendo con la línea de mejora del modelo sináptico, se plantea incorporar más de un tipo de receptor de glutamato, ya que en este caso sólo se incorpora el receptor AMPA. Por tanto, podría añadirse al modelo el receptor NMDA y analizar su efecto sobre la sinapsis.

El ángulo de los arcos que forman la morfología de los modelos de esta tesis es de  $180^\circ$ , podría contemplarse el crear un conjunto de modelos variando entre una serie de posibles valores para el ángulo de estos arcos.

Por otra parte, es interesante incorporar las reconstrucciones de sinapsis reales como modelos sobre los que aplicar las herramientas de simulación para la obtención de nuevos datos sobre los que realizar un análisis posterior. De esta forma, no será necesario construir modelos idealizados y se podrán obtener conclusiones directas sobre morfologías de sinapsis reales.



**Figura 6.1:** Reconstrucción de una sinapsis real

---

# Bibliografía

A.Rahman. Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Phys*, 136:A405–A411, 1964.

[Citado en pág. 21.]

Deniz Atasoy, Mert Ertunc, Krista L. Moulder, Justin Blackwell, ChiHye Chung, Jianzhong Su, and Ege T. Kavalali. Spontaneous and evoked release activate different receptors. *JNEUROSCI*, 28:10151–10166, 2008.

[Citado en pág. 37.]

B.J.Alder and T.A.Wainwright. *Proceedings of the International Symposium on Statistical Mechanical Theory of Transport Processes*. Interscience, 1958.

[Citado en pág. 21.]

Dieter Bruns and Reinhard Jahn. Real-time measurement of transmitter release from single synaptic vesicles. *Nature*, 377:62–65, 1995.

[Citado en pág. 36.]

Bruce Fischl and Anders M. Dale. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *PNAS*, 97:11050–11055, 2006.

[Citado en pág. 11.]

George S. Fishman. *Monte Carlo: Concepts, Algorithms and Applications*. Springer, 1995.

[Citado en pág. 22.]

P Jonas, G Major, and B Sakmann. Quantal components of unitary epscs at the mossy fibre synapse on ca3 pyramidal cells of rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 472:615–663, 1993.

[Citado en págs. v y 37.]

Longworth. Diffusion measurements at 250, of aqueous solutions of amino acids, peptides and sugars. *Chem*, 75:5705–5709, 1953.

[Citado en pág. 36.]

L.P.Savtchenko and D.A.Rusakov. Glutamate escape from a tortuous synaptic cleft of the hippocampal mossy fibre synapse. *NCBI*, 45:479–484, 2004.

[Citado en pág. 38.]

Akiko Momiyama, R. Angus Silver, Michael Häusser, Takuya Notomi, Yue Wu, Ryuichi Shigemoto, and Stuart G. Cull-Candy. The density of ampa receptors activated by a transmitter quantum at the climbing fibre–purkinje cell synapse in immature rats. *Journal of Physiology*, 549:75–92, 2003.

[Citado en pág. 43.]

M.N.Rosenbluth N.Metropolis, A.W.Rosenbluth and E.Teller. Equation of state calculations by fast computing machines. *J.Chem.Phys*, 21:1087–1092, 1953.

[Citado en pág. 21.]

Leonid P. Savtchenko and Dmitri A. Rusakov. The optimal height of the synaptic cleft. *PNAS*, 104: 1823–1828, 2007.

[Citado en págs. 15 y 43.]

J.R. Stiles and Thomas M. Bartol. Mcell: A monte carlo simulator of cellular microphysiology. Website, 2005. <http://www.mcell.cnl.salk.edu/>.

[Citado en pág. 24.]

Ángel Merchán-Pérez, José-Rodrigo Rodríguez, Charles E. Ribak, and Javier DeFelipe. Proximity of excitatory and inhibitory axon terminals adjacent to pyramidal cell bodies provides a putative basis for nonsynaptic interactions. *PNAS*, 106:9878–9883, 2009.

[Citado en págs. v y 4.]